



Universidade Federal do Maranhão
**Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa, Pós-
Graduação e Internacionalização.**
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto
Mestrado Acadêmico



**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM
DERIVADO DA *Cannabis sativa* (delta-9-Tetrahydrocannabinol)
NOS SINTOMAS DA MENOPAUSA**

CAMILA VITÓRIA PINTO TEIXEIRA

São Luís

2023

CAMILA VITÓRIA PINTO TEIXEIRA

**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM
DERIVADO DA *Cannabis sativa* (delta-9-Tetrahydrocannabinol)
NOS SINTOMAS DA MENOPAUSA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de concentração: Processos biológicos em saúde

Linha de Pesquisa: Doenças infecciosas e endêmicas no Maranhão

Orientador: Prof. Dr. Manuel dos Santos Faria

Co-orientadora: Profa. Dra. Haissa Oliveira Brito

Coordenador: Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade

São Luís

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Pinto Teixeira, Camila Vitória.

EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM DERIVADO DA CANNABIS
SATIVA delta-9-Tetrahydrocannabinol NOS SINTOMAS DA
MENOPAUSA / Camila Vitória Pinto Teixeira. - 2023.

73 f.

Coorientador(a): Haissa Oliveira Brito.

Orientador(a): Manuel Santos Faria.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luis- MA, 2023.

1. Canabidiol. 2. Climaterio. 3. Menopausa. I.
Brito, Haissa Oliveira. II. Faria, Manuel Santos. III.
Título.

CAMILA VITÓRIA PINTO TEIXEIRA

**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM DERIVADO DA
Cannabis sativa (delta-9-Tetrahydrocannabinol) NOS SINTOMAS
DA MENOPAUSA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da qualificação de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: ____ / ____ / ____.

Prof. Dr. Manuel dos Santos Faria (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profª. Dra. Haissa Oliveira Brito (Co-orientadora)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecílio Hallak (Examinador)
Universidade de São Paulo-USP

Prof. Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Marcelo Magalhães Silva (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Dedico

À Deus por sempre estar comigo, minha mãe e toda a minha família por todo apoio e amor.

AGRADECIMENTOS

A ostra sofre muito para formar a pérola, ela passa por momentos difíceis e doloridos. Na verdade, trata-se de um mecanismo de defesa frente a um agente agressor. Um grão de areia entra na ostra e a mesma para se defender libera uma substância chamada “Nácar” que ao ser lançada sobre o invasor se cristaliza e forma uma bola rígida. Assim, essa bola mais tarde será uma bela pérola e esse processo demora cerca de três anos para ser finalizado. Assim como a ostra por diversas vezes somos desafiados pelos obstáculos que a vida nos impõe, mas devemos transformar aquele momento difícil e desafiador em uma possibilidade de realizar algo grandioso e valioso, pois não devemos ter medo do caminho, mas sim de não caminhar e permanecer inertes no mesmo lugar.

Por isso, agradeço a Deus por sempre estar comigo durante toda a minha trajetória de vida me dando força para não desistir e, principalmente, por ter me presenteado com a melhor mãe do mundo Maria de Jesus Santos Pinto Teixeira, pois sem ela eu jamais seria o que sou. Obrigada, mãe, por acreditar em mim e me dar todo apoio e suporte para vencer cada obstáculo. Agradeço também a minha família amada por todo apoio e compreensão.

Deus não coloca ninguém em nossa vida se não tiver um propósito, por isso quero agradecer aos meus amigos que foram essenciais em cada momento dessa jornada: Marina, Larissa e Fabrício. Agradeço imensamente pela vida de vocês, pois ninguém consegue fazer nada sozinho e vocês são a prova de que juntos podemos vencer qualquer obstáculo.

Agradeço imensamente ao meu companheiro Maurício Almeida Cunha, por toda a ajuda nos momentos mais difíceis, amor e compreensão e por me incentivar a ir mais longe. Obrigada por acreditar em mim mesmo quando nem eu mesma acreditava.

Ademais, expresso toda a minha gratidão a minha co-orientadora Haissa Oliveira Brito por me orientar e dar a oportunidade de crescer profissionalmente. Ao meu orientador Manuel dos Santos Faria e ao professor Rui Miguel, pois foram primordiais para o meu processo de aprendizado.

Assim, quero agradecer a professora Rosália dos Santos Rodrigues pela ajuda, cuidado e compreensão durante esses dois anos. Obrigada por ser esse ser humano incrível.

À professora Ana Paula de Araújo Abreu por toda ajuda e apoio.

Agradeço a todos os meus professores que contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Sou grata pela ajuda de todos que, de uma forma direta ou indireta, possibilitaram que eu transformasse esses grãos de areia em pérolas valiosas.

Ao Dr. José Alexandre de Souza Crippa e Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecílio Hallak pela colaboração com a pesquisa. Obrigada pela confiança e por acreditar no trabalho.

À toda a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, pelo apoio e ajuda em todo este percurso.

Ao Laboratório de Farmacologia prof.^a Marilene e prof. Romão por toda a estrutura. Agradeço imensamente a Elaine por toda ajuda.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão (FAPEMA), por todo apoio financeiro para realização da pesquisa.

À UFMA, junto ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD).

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois, o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué (1:9)

RESUMO

O climatério caracteriza-se por um estado hormonal alterado e, frequentemente, por uma diminuição na qualidade de vida, devido ao aparecimento de sintomas que podem causar um desconforto significativo para algumas mulheres e um dos principais sintomas é o fogacho. Por isso, a comunidade científica tem buscado novas alternativas medicinais como, por exemplo, a utilização de plantas medicinais ricas em substâncias capazes de amenizar os efeitos da falta de estrogênio. Baseado nisso, o presente estudo visa avaliar o efeito do tratamento crônico com o derivado da *Cannabis sativa*, canabidiol, nos sintomas da menopausa em modelo animal. Para a realização do experimento os animais foram divididos em 5 grupos: Falso operado (SHAM) tratado com óleo mineral; Ovariectomizados tratados com óleo mineral (OVX VEÍC); Ovariectomizados tratados com 1mg/kg de estrogênio (OVX E2); Ovariectomizados tratados com 10mg/kg de canabidiol (OVX CBD); Ovariectomizados tratados com microdose de estrogênio (0,5mg/kg) e canabidiol (5mg/kg) (OVX CBD E2). Durante o tratamento (15 dias) foram mensuradas ciclo estral, peso corporal e mensuração da temperatura corporal. Ao término avaliou-se os parâmetros bioquímicos séricos, hormonais e histológicos das amostras. O grupo OVX VEÍC apresentou alterações significativas em relação ao peso corporal, colesterol total e nos marcadores hormonais FSH e estrogênio. Ademais, foi o grupo que apresentou maior atrofia uterina dentre os ovariectomizados. Foi observado também um aumento na temperatura caudal cutânea em relação aos demais grupos. O grupo OVX E2 melhorou significativamente esses efeitos deletérios decorrentes da depleção de estrogênio em comparação com o grupo OVX VEÍC. O grupo OVX CBD apresentou um aumento no colesterol total, consumo de ração e peso corporal e no marcador hormonal estrogênio. A atrofia uterina foi levemente menor do que o grupo OVX veículo e em relação ao ciclo estral observou-se que houve uma permanência de 58,3% na fase estro. Dentre os grupos ovariectomizados o grupo tratado com CBD foi o que apresentou a menor variação de temperatura. O grupo OVX CBD E2 apresentou alterações significativas em relação ao peso corporal, consumo de ração, peso do tecido adiposo, colesterol total e nos níveis de estrogênio. Em relação a atrofia uterina essa atrofia foi significativamente mais reduzida em comparação a todos os outros grupos submetidos a ovariectomia e apresentou ciclicidade de 57,14% na fase estro. Portanto, é possível concluir que a administração da associação de CBD com estrogênio apresentou resultados favoráveis em relação a reversão de alguns quadros comuns na menopausa como a diminuição do peso corporal, reversão da atrofia uterina, diminuição do tecido adiposo e colesterol total e ainda em relação a indução de fogacho apresentou significância estatística quando comparado com o grupo SHAM. Assim, novos estudos devem ser realizados para explorar os mecanismos relacionados a esses dados encontrados no presente estudo.

Palavras chaves: Menopausa; canabidiol; Climatério

ABSTRACT

The climacteric is characterized by an altered hormonal state and, frequently, by a decrease in the quality of life, due to the appearance of symptoms that can cause significant discomfort for some women and one of the main symptoms is hot flushes. Therefore, the scientific community has been looking for new medicinal alternatives, such as the use of medicinal plants rich in substances capable of mitigating the effects of the lack of estrogen. Based on this, the present study aims to evaluate the effect of chronic treatment with the derivative of *Cannabis sativa*, cannabidiol, on menopausal symptoms in an animal model. To carry out the experiment, the animals were divided into 5 groups: Sham operated (SHAM) treated with mineral oil; Ovariectomized patients treated with mineral oil (OVX VEHIC); Ovariectomized patients treated with 1mg/kg of estrogen (OVX E2); Ovariectomized patients treated with 10mg/kg of cannabidiol (OVX CBD); Ovariectomized patients treated with a microdose of estrogen (0.5mg/kg) and cannabidiol (5mg/kg) (OVX CBD E2). During treatment (15 days) the estrous cycle, body weight and body temperature were measured. At the end, the serum, hormonal and histological biochemical parameters of the samples were evaluated. The OVX VEHIC group showed significant changes in body weight, total cholesterol and hormone markers FSH and estrogen. Furthermore, it was the group that presented the greatest uterine atrophy among the ovariectomized patients. An increase in the cutaneous caudal temperature was also observed in relation to the other groups. The OVX E2 group significantly improved these deleterious effects of estrogen depletion compared to the OVX VEHIC group. The OVX CBD group showed an increase in total cholesterol, feed intake and body weight and in the hormone marker estrogen. Uterine atrophy was slightly lower than the vehicle OVX group and in relation to the estrous cycle, it was observed that there was a permanence of 58.3% in the estrus phase. Among the ovariectomized groups, the CBD-treated group had the lowest temperature variation. The OVX CBD E2 group showed significant changes in body weight, feed intake, adipose tissue weight, total cholesterol and estrogen levels. Regarding uterine atrophy, this atrophy was significantly reduced compared to all other groups submitted to ovariectomy and presented cyclicity of 57.14% in the estrus phase. Therefore, it is possible to conclude that the administration of the association of CBD with estrogen presented favorable results in relation to the reversal of some common conditions in menopause, such as the decrease in body weight, reversal of uterine atrophy, decrease in adipose tissue and total cholesterol and also in relation to hot flush induction was statistically significant when compared with the SHAM group. Thus, new studies must be carried out to explore the mechanisms related to these data found in the present study.

Keywords: Menopause; Cannabidiol; Climacteric.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequência de fases do ciclo estral de cada grupo no período de tratamento de 15 dias.....	49
--	----

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Perda da função ovariana na menopausa.....	22
Figura 2- Vias pelas quais a depleção de estrogênio na menopausa afeta adversamente a saúde.....	24
Figura 3- Estrutura química do Δ^9 -Tetraidrocanabinol.....	29
Figura 4- Estrutura química do Canabidiol.....	30
Figura 5 -Administração de CBD intraperitoneal em camundongos.....	36
Figura 6- Administração de Estradiol por via oral(Gavagem) em camundongos.....	36
Figura 7- Representação esquemática do Ciclo estral da rata.....	38
Figura 8- Contenção do camundongo para medida da temperatura caudal.....	40
Figura 9-Fluxograma de treinamento dos animais para condicionamento.....	41
Figura 10- Treinamento de camundongos na esteira.....	41
Figura 11- Acompanhamento ponderal em dias de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	43
Figura 12- Peso corporal de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	44
Figura 13- Consumo total de ração de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	44
Figura 14- Efeito do tratamento de 15 dias na determinação do tecido adiposo e peso uterino de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	45
Figura 15-Efeito do tratamento de 15 dias na determinação de colesterol total e triglicérides de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	46
Figura 16-: Efeito do tratamento de 15 dias na determinação de Albumina e Magnésio de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	47
Figura 17- Aumento da temperatura cutânea induzida pelo exercício para indução de fogacho em camundongas falso operadas (VEIC) e ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....	49
Figura 18-Termogramas representativos da temperatura da pele da cauda logo após a indução dos fogachos através do exercício na esteira.....	49
Figura 19- Efeito do tratamento de 15 dias na determinação dos níveis hormonais de E2 e FSH de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, Estrogênio ou CBD.....	50

Figura 20- Análises histológica do tecido uterino de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.....53

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2-AG	2-araquidonoil glicerol
5-HT	Receptor de serotonina
AEA	Anandamida
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CBD	Canabidiol
CBN	Canabinol
CBs	Canabinoides
ETN1	Tipo 1 transportador equilibrador de nucleosídeos
FABP	Proteína de ligação a ácidos graxos
FSH	Homônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de gonadotrofina
GPR55	Receptor acoplado à proteína G 55
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IMAOs	Inibidores da Monoamina Oxidase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
NO	Óxido Nítrico
NRF2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
SE	Sistema Endocanabinoide
THC	Tetrahydrocannabinol
TRH	Terapia de Reposição Hormonal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1	CLIMATÉRIO	20
2.1.1	Fisiologia do climatério.....	21
2.1.2	Alterações fisiológicas desencadeadas pelo climatério.....	23
2.1.3	Terapia de Reposição Hormonal	24
2.2	CANABINOIDES.....	26
2.2.1	<i>Cannabis sativa</i>	26
2.2.2	Sistema endocanabinoide	27
2.2.3	Delta-9-Tetrahydrocannabinol	28
2.2.4	Canabidiol	29
2.3	CANABINOIDES E MENOPAUSA.....	31
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
4	METODOLOGIA.....	35
4.1	TIPO DE ESTUDO	35
4.2	ANIMAIS.....	35
4.3	DROGAS UTILIZADAS	37
4.4	CIRURGIAS DE FALSO-OPERADO (SHAM) E OOFORRECTOMIA.....	38
4.5	DETERMINAÇÃO DO CICLO ESTRAL.....	38
4.6	DETERMINAÇÃO DO CONSUMO DE RAÇÃO DOS ANIMAIS.....	39
4.7	DETERMINAÇÃO DO PESO CORPORAL DOS ANIMAIS	39
4.8	COLETA DE SANGUE PARA ENSAIO DE DOSAGENS HORMONAIS E BIOQUÍMICA	39
4.9	DETERMINAÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO E PESO UTERINO DAS RATAS	40
4.10	ANÁLISE HISTOLÓGICA PARA COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA E EOSINA (H&E) ..	40
4.11	REGISTRO DA TEMPERATURA CAUDAL E PROCESSAMENTO	40
4.12	EXERCÍCIO FORÇADO PARA INDUÇÃO DE FOGACHOS/ONDAS DE CALOR EM CAMUNDONGOS	41

4.13 ANÁLISES ESTATÍSTICA	42
5 ASPECTOS ÉTICOS	43
6 RESULTADOS	44
6.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS NO PESO CORPORAL.	44
6.2 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS EM RELAÇÃO AO CONSUMO TOTAL DE RAÇÃO.....	45
6.3 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS SOBRE O PESO DO TECIDO ADIPOSEO E DO ÚTERO.....	46
6.4 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE COLESTEROL TOTAL E TRIGLICÉRIDES.....	47
6.5 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE ALBUMINA E MAGNÉSIO.	48
6.6 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM CAMUNDONGAS OVARIETOMIZADAS SOBRE A CICLICIDADE ESTRAL.....	48
6.7 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM CAMUNDONGAS OVARIETOMIZADAS SOBRE O MODELO DE FOGACHOS INDUZIDO ATRAVÉS DE EXERCÍCIO NA ESTEIRA.	49
6.8 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS HORMONAIS DE ESTROGÊNIO E FSH.....	50
6.9 ANÁLISES HISTOLÓGICA DO TECIDO UTERINO EM RATOS OVARIETOMIZADOS TRATADOS COM DERIVADO DA <i>CANNABIS SATIVA</i> (CANABIDIOL).	51
7 DISCUSSÃO.....	54
8 CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	64
ANEXO.....	72
ANEXO A – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O climatério caracteriza-se por um estado hormonal alterado e, frequentemente, por uma diminuição na qualidade de vida, devido ao aparecimento de sintomas que podem causar um desconforto significativo para algumas mulheres. Atualmente, com o aumento da expectativa de vida, as mulheres transcorrem um terço de suas vidas no climatério, que pode estender-se dos 35 aos 65 anos de idade (MOREIRA, 2014).

Este período consiste na transição da fase reprodutiva da mulher para a fase não reprodutiva, com o declínio gradual da função ovariana e a instalação da menopausa. O diagnóstico da menopausa é determinado pelo último fluxo menstrual seguido de doze meses de amenorreia, constituindo um evento que ocorre durante o climatério (CHEDRAUI, 2010).

O estrogênio atua em diferentes tecidos como mama, tecido adiposo, epitélio vaginal, parede uterina e osso. Ademais, também está envolvido na ingestão alimentar, metabolismo, sistema cardiovascular, perfil lipídico entre outros. Por meio da sua diminuição ocorrem diversos sintomas no organismo que são observados principalmente no quadro da menopausa (ALMEIDA *et al.*, 2017). Os sintomas mais comumente apresentados incluem fogachos, suores noturnos, palpitações e cefaleias. Somam-se mudanças no metabolismo ósseo, cardiovascular e manifestações psicológicas como a depressão, irritabilidade, fadiga e perda da libido (MALHEIROS *et al.*, 2014).

Os fogachos são os sintomas mais comuns ocorrendo em mulheres que estão na menopausa associada à idade ou à cirurgia de remoção de ovários. Esse sintoma se manifesta com o transitório aumento da temperatura da pele que está associado à vasodilatação cutânea e uma subsequente redução drástica da temperatura corporal. Diversas evidências sobre os fogachos sugerem que a instabilidade do sistema vasomotor associado com uma significativa redução de estrogênio são os responsáveis por esse sintoma. No endotélio, o estrogênio aumenta a produção e a liberação de óxido nítrico (N.O.) por aumentar a atividade da N.O, síntese endotelial e ou expressão relacionada ao gene. Isso sugere que os mecanismos mediados via NO estão envolvidos na disfunção vasomotora na menopausa (SHUTO *et al.*, 2001).

A terapia de reposição hormonal sintética foi a primeira escolha de tratamento para mulheres que buscam minimizar os sintomas desencadeados pela falta de estrogênio. No entanto, com o passar do tempo descobriu-se algumas restrições a respeito do seu uso principalmente no que diz respeito a mulheres com histórico familiar de câncer de mama e útero. Por isso, a comunidade científica tem buscado novas alternativas medicinais como, por

exemplo, a utilização de plantas medicinais ricas em substâncias capazes de amenizar os efeitos da falta de estrogênio (LORAND *et al.* 2010).

Cannabis (*Cannabis sativa*) é uma das plantas medicinais mais antigas a serem utilizadas das mais diversas formas na história humana, mas não foi até 1964 que o mais abundante e o principal psicoativo constituinte da *Cannabis sativa*, Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), e, posteriormente, o seu segundo mais abundante o canabidiol (CBD) foram identificados (DESPRÉS, 2007).

Há milhares de anos os fitocanabinoides já são usados para tratar diversas comorbidades, dores menstruais, constipação e até mesmo reumatismo. Nos tempos atuais sabe-se que os canabinóides possuem vários efeitos como catalepsia, hipotermia, anti-inflamatório, antinocicepção (PERTWEE, 2008). Com isso, cada dia essas substâncias passam a ser objetos de estudo na comunidade científica e já foi relatado com o seu potencial para várias aplicações terapêuticas como, por exemplo, ansiedade (SETHI *et al.*,1986) e transtornos do humor (BAMBICO *et al.*, 2009).

Baseado nisso, o presente estudo visa avaliar os efeitos do uso do derivado da planta *Cannabis sativa*, o canabidiol como possível tratamento para os sintomas da menopausa em modelos animais.

Desfechos negativos causados pela depleção estrogênica poderia desempenhar um papel nas mudanças fisiológicas associadas ao climatério, e o tratamento com derivado da *Cannabis sativa* (Canabidiol) poderia atenuar esses efeitos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CLIMATÉRIO

O climatério é caracterizado pela transição da fase reprodutiva para a fase não reprodutiva da mulher sendo o marco desse processo a menopausa. Nessa fase ocorre a redução dos níveis de estrogênio e aumento dos níveis de progesterona (DUNNERAM; GREENWOOD; CADE, 2019).

Normalmente, as mulheres em idade reprodutiva produzem três classes de esteróides sexuais: estrógenos, progestinas e androgênios. A maioria desses esteróides são secretados pelo corpo lúteo. Os androgênios são precursores dos estrogênios e são relacionados a libido e a massa muscular e desenvolvimento do folículo ovariano. Dentre os estrógenos temos o estradiol ou 17 β -estradiol que é o mais potente estrogênio (OLIVEIRA, 2016).

A menopausa e o climatério são eventos normais e fisiológicos, porém, podem desencadear inúmeros eventos negativos no organismo feminino como, por exemplo, irregularidades menstruais, sintomas vasomotores, insônia, instabilidade do humor, atrofia urogenital, osteoporose, doenças cardiovasculares, câncer e problemas cognitivos (SILVA; DE OLIVEIRA, 2021).

Segundo a *North American Menopause Society – NAMS* (2013) a menopausa pode ser dividida em 3 etapas: perimenopausa, menopausa natural e pós menopausa. A perimenopausa é o intervalo de tempo antes da menopausa normal e onde ocorrem as primeiras alterações corporais, a menopausa natural ocorre naturalmente por volta dos 51 anos e é confirmada após 12 meses sem menstruação já a pós-menopausa é o período depois da menopausa.

Os sinais físicos mais comuns apresentados por mulheres na perimenopausa são: períodos menstruais irregulares, fogachos, secura vaginal, distúrbios do sono e oscilações de humor. Nesse sentido, esses diversos sinais são reflexos de alterações hormonais ovarianas como, por exemplo, a diminuição do estrogênio. Na pós-menopausa devido ao corpo produzir pouco estrogênio ainda podem surgir sintomas como secura vaginal e fogachos e por isso, o risco de desenvolvimento de doenças associadas ao hipoestrogenismo são aumentados como doenças cardiovasculares e osteoporose (NAMS, 2013; MALHEIROS *et al.*, 2014).

De acordo com a Oficina do Envelhecimento do sistema Reprodutivo (STRAW) a perimenopausa compreende três estágios: o primeiro é a transição menopausica que se designa pela irregularidade do ciclo menstrual de forma persistente; o segundo é a transição

tardia que é o intervalo entre a amenorreia igual ou superior a 60 dias nos 12 meses anteriores; o terceiro é a pós-menopausa precoce que é 1 ano após o período menstrual final (HARLOW *et al.*, 2012).

2.1.1 Fisiologia do climatério

Na adolescência, o início do período fértil e a ciclicidade hormonal é marcada pela presença dos hormônios estrogênicos e progesterona e, conseqüentemente, dá-se início à menstruação. No entanto, a menopausa é caracterizada pela parada da menstruação, pois os ovários irão deixar de produzir esses hormônios fazendo com que todos os benefícios desencadeados por eles como, por exemplo, a vivacidade e a possibilidade de gravidez sejam paradas (GRAEF *et al.*, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define o climatério como uma fase biológica de transição entre o período reprodutivo para o não reprodutivo da mulher e a menopausa, marco dessa fase, corresponde ao último ciclo menstrual, sendo somente reconhecida depois de 12 meses, e ocorre, em média, aos 51 anos (BAKER *et al.*, 2018; PIECHA *et al.*, 2018; PRAKAPENKA; BIMONTE-NELSON, 2018). No entanto, algumas mulheres iniciam esse período antes dos 40 anos de idade, caracterizando a menopausa precoce (DAAN *et al.*, 2016). Assim, para se entender melhor o climatério faz-se necessário conhecer a fisiologia do ciclo ovariano.

Inicialmente, a mulher possui uma reserva de aproximadamente 400.000 folículos ovarianos. No entanto, esse número reduz gradualmente a uma taxa de 1000 folículos por mês durante o seu ciclo fértil até a extinção completa (PERHEENTUPA; HUHTANIEMI, 2009). A pré-menopausa é o período de cinco anos antes da menopausa. Nesse momento ocorrem diversas mudanças hormonais e, posteriormente, ocorre a indução da peri-menopausa, fase essa caracterizada pela desregulação menstrual, ocasionando, dessa forma, períodos mais longos e curtos e alguns sintomas desconfortáveis (MANICA; BELLAVAR; ZANCANARO, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

A quantidade de folículos é reduzida próximo aos 35 anos de idade. Com isso, há uma diminuição na maturação e queda da fertilidade e, por volta dos 40 anos, aparecem alguns sintomas provenientes do fim da pré-menopausa e início do climatério. É nessa fase que ocorre uma desregulação no ciclo menstrual, os folículos são comprometidos e ocorre uma baixa maturação de ovócitos. A pós-menopausa ocorre 12 meses após a menopausa (TRELOAR, 1981; PRIOR, 1998).

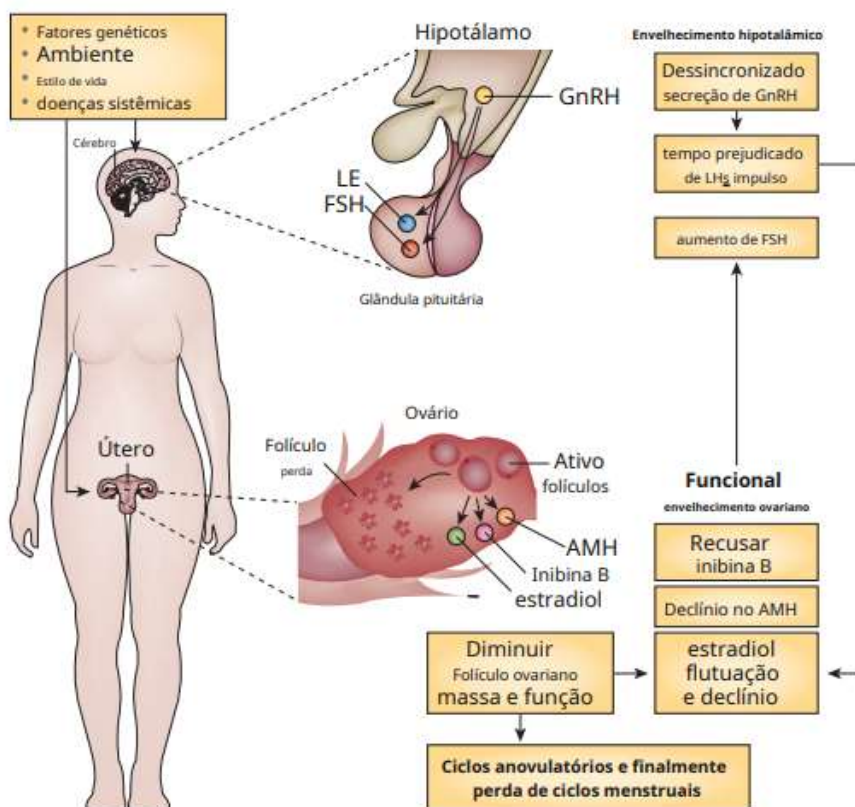


Figura 1: Perda da função ovariana na menopausa

Fonte: Davis *et al.*, 2015

O Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (Figura 1), produzido pelo hipotálamo e secretado pela hipófise, é responsável pela liberação de gonadotrofinas: Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e o Hormônio Luteinizante (LH) que, posteriormente, são transportados para os ovários onde irão desenvolver suas atividades no ciclo reprodutivo. No ovário, existem dois principais tipos de células: célula da Teca e célula da granulosa. Essas são as principais células ovarianas que interagem com as gonadotrofinas. Nesse sentido, o FSH interage diretamente com as células da granulosa enquanto que o LH liga-se aos receptores das células tecais ativando a síntese de androstenediona. Por outro lado, a ativação do metabolismo do estrogênio e desenvolvimento de folículos ovarianos se dá pelo FSH (BRUCE; RYMER, 2009).

Posteriormente, o folículo é rompido e o ovócito é liberado, transformando-se em corpo lúteo que é responsável por liberar progesterona e inibina A e B. Com isso, ocorre o

feedback negativo e os níveis de LH e FSH são reduzidos pela hipófise (HALL, 2004).

2.1.2 Alterações fisiológicas desencadeadas pelo climatério

Com a transição do climatério para a menopausa acaba ocorrendo diversas disfunções no ciclo menstrual por conta da diminuição dos níveis de estrogênio (Figura 2) desencadeando a hipermenorréia que é quando o sangramento dura mais de cinco dias; hipomenorreia que é quando dura menos de dois dias; de menorragia caracterizado por um sangramento de grande fluxo; oligomenorreia que é quando ocorre pouca quantidade de sangue; proiomenorreia quando o sangramento pode ocorrer de 20 a 25 dias; de polimenorréia: quando o sangramento se repete a cada 15 dias; e de opsomenorreia, quando o intervalo do sangramento é de 35 a 40 dias (LEAL; RIBEIRO, 2014).

O estrogênio atua na ciclicidade da mulher e, com a chegada da menopausa, a carência desse hormônio resulta em alterações morfofisiológicas e celulares relevantes modificando a secreção de alguns hormônios como, por exemplo, a leptina (NG, YONG; CHAKRABORTY, 2010).

Ademais, estudos também evidenciam que devido à falta estrogênica e, conseqüentemente, o excesso de gordura abdominal, pode ocorrer o desenvolvimento de intolerância à glicose na menopausa podendo desenvolver diabetes por resistência à insulina (ORSATTI *et al.*, 2008). Alterações no perfil lipídico também estão presentes na menopausa o que acaba propiciando o surgimento de distúrbios cardiovasculares.

As complicações cardíacas podem ser desencadeadas devido às alterações no perfil lipídico que são caracterizadas pelo aumento dos triglicerídeos LDL (Lipoproteína de baixa densidade) e diminuição de HDL (Lipoproteína de alta densidade) que são proporcionadas pela diminuição dos níveis de estrogênios (DIAS *et al.*, 2011). O Estrogênio apresenta radicais hidrofénólicas em sua estrutura e, por isso, tem ação antioxidante. Assim, neutraliza os radicais livres e impede a oxidação de LDL inibindo a formação da placa aterosclerótica (MORGAN-MARTINS, 2003; MORGAN-MARTINS *et al.*, 2011).

Paralelo a isso, o estrogênio também tem papel fundamental no metabolismo ósseo, pois é um importante regulador da atividade osteoblástica mantendo a integridade da massa óssea. Nesse cenário, ocorre também, conseqüentemente, o aumento da atividade dos osteoclastos que acabam reduzindo os níveis de calcitonina, o que resulta na perda da massa óssea e osteoporose (AMADEI *et al.*, 2006).

Nessa fase a atividade dos inibidores da monoamina oxidase (IMAOs) também é

aumentada devido à queda de estrogênio e, conseqüentemente, ocorre a degradação de neurotransmissores que são chave do humor, modulação da fome e saciedade como, por exemplo, a serotonina, dopamina, epinefrina e norepinefrina prejudicando as conexões sinápticas (SILVA, 2006).

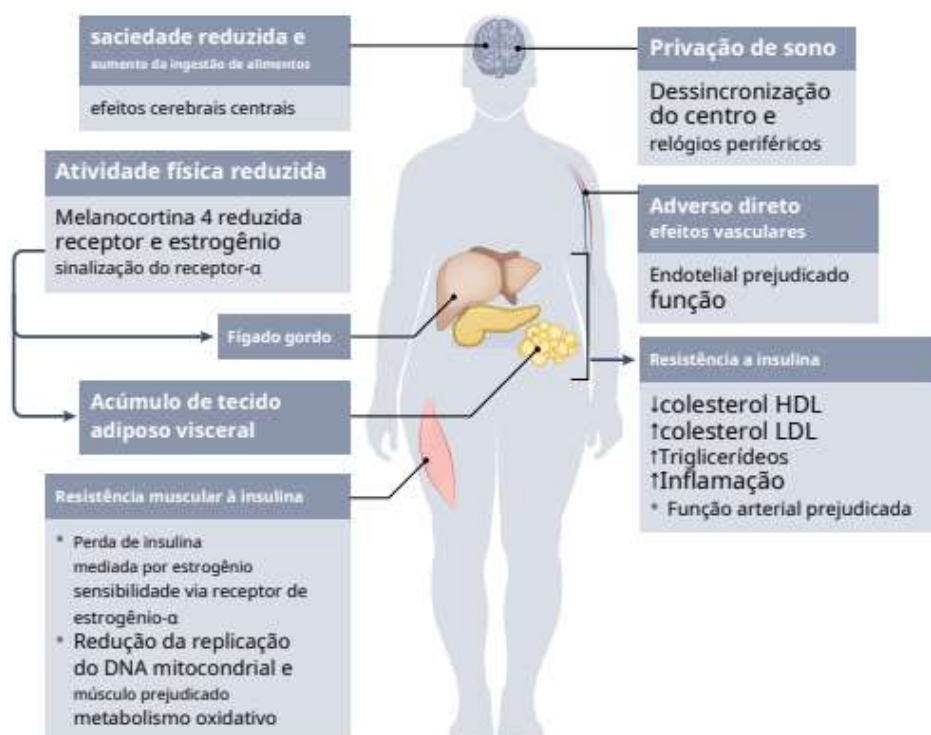


Figura 2: Vias pelas quais a depleção de estrogênio na menopausa afeta adversamente a saúde.

Fonte: Davis *et al.*, 2022

Existem diversos receptores estrogênicos em grande parte do cérebro como, por exemplo, no hipotálamo, amígdala, hipocampo, locus ceruleus e lobo frontal, por isso devido ao declínio do estrogênio acaba ocorrendo alterações no perfil cognitivo da mulher, no humor, memória e sono (ALDRIGHI; HUEB; ALDRIGHI, 2014; NASSIF *et al.*, 2005; ROSA-E-SILVA; SÁ, 2006). Também ocorrem algumas alterações sexuais e urogenitais tais como o ressecamento vaginal e incontinência urinária (LEAL; RIBEIRO, 2014).

2.1.3 Terapia de Reposição Hormonal

Apesar de estar disponível há mais de 60 anos a Terapia de Reposição Hormonal ainda é um tema controverso gerando diversas opiniões dividindo a comunidade científica entre

defensores e críticos uma vez que a linha é tênue entre os benefícios e malefícios desencadeados por essa terapia. Portanto, trata-se de um assunto de extrema relevância devendo ser avaliada e estudada ainda mais pela comunidade científica. O uso irracional da Terapia de Reposição Hormonal pode além de levar o paciente a utilizar substâncias que não causam o efeito esperado como também pode levar a efeitos indesejáveis que podem comprometer a saúde da Mulher.

Os estudos randomizado de grande abrangência do *Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS)* e o *Women's Health Initiative (WHI)* chegaram à conclusão que a incidência de doença coronária não foi reduzida por meio do tratamento com estrógenos equinos conjugados associados ao acetato de medroxiprogesterona, ao contrário, aumentou a ocorrência de eventos tromboembólicos e doenças renais (HULLEY *et al.*, 1998). Devido a elevada incidência de câncer invasivo como, por exemplo, o de mama que foi identificado nas voluntárias participantes do estudo que utilizaram estrógenos associados a progestina o estudo realizado por WHI foi interrompido (HOLT-WALDO NY *et al.*, 2007).

A terapia de reposição hormonal aumenta significativamente os riscos de tromboembolismo, o que pode ser aumentado pela ocorrência da obesidade, trombofilia, cirurgia e imobilização. Estudos evidenciam que a terapia combinada com estrógeno mais progesterona aumenta o risco de tromboembolismo quando comparado com a monoterapia estrogênica (ROZENBERG S *et al.*, 2013). O risco do evento tromboembólico é maior por via oral da associação de estrogênio e progesterona durante o primeiro ano de reposição (VIEIRA *et al.*, 2007).

Em mulheres idosas com doença vascular pré-existente a TRH não consegue reduzir os riscos de Acidente Vascular Encefálico (AVE). Além da idade, o risco de AVE pode estar diretamente relacionado com a dose e via de administração do estrógeno e da associação com progestágenos (LOBO RA *et al.*, 2013).

Os estrógenos podem ser classificados entre sintéticos e naturais. Os sintéticos não são oxidados pela desidrogenase que oxida o 17- β estradiol o que causa efeitos indesejáveis independente da via de administração. Dessa forma, seu uso torna-se restrito aos anticoncepcionais orais sendo os principais: o etinilestradiol, mestranol, quinestrol e dietilestilbestrol. Já os naturais são os mais utilizados na TRH quanto aos estrogênios naturais são os estrogênios conjugados e o estradiol transdérmico ou percutâneo, seguidos pelo valerianato de estradiol e o estradiol micronizado (NEVES *et al.*, 2009).

Ademais, existem alternativas terapêuticas como por exemplo a Tibolona que é um

esteróide sintético utilizado em diversos países para tratar sintomas da menopausa. A tibolona ameniza os sintomas vasomotores, melhora a atrofia urogenital e previne a perda de massa óssea, além de melhorar a libido e elevar o LDL por conta do seu perfil androgênico (PARDINI, 2014).

Paralelo a isso, tem-se também a utilização do Raloxifeno que possui efeito estrogênico no osso e na circulação, efeito antiestrogênico na mama e útero. Porém, não possui ação nos sintomas vasomotores podendo até mesmo gravá-los. Dessa forma, a sua principal recomendação é para o tratamento preventivo de osteoporose pós-menopáusicas. Ademais, assim como o estrogênio o raloxifeno também aumenta o risco de AVE e tromboembolismo (PARDINI, 2014).

2.2 CANABINOIDES

2.2.1 *Cannabis sativa*

Estudos indicam que a *Cannabis sativa* estava presente há 11.400 anos na época do Holoceno na Ásia central (TARASOV *et al.*, 2007; CLARKE; MERLIN, 2013). Os primeiros usos evidenciados dessa planta datam de 10.000 anos no Japão (OKAZAKI *et al.*, 2011) e cerca de 4.000 anos na China (JIANG *et al.*, 2006). Por meio da domesticação humana e para se adaptar a diversidade de climas a *Cannabis* era muito utilizada como fibra, alimento e planta medicinal pelos Xamãs (PISANTI; BIFULCO, 2019).

A *Cannabis sativa* pertence à família Moraceae (cânhamo da Índia) e cresce livremente principalmente nas regiões tropicais e temperadas. Essa planta é dióica, pois possuem tanto espécie masculina como feminina e pode ser designada de várias formas ao redor do mundo: marijuana, hashish, charas, bhang e sinsemila (HONORIO, 2006). Na *Cannabis sativa*, mais precisamente nas folhas onde estão localizados os pêlos secretores na espécie feminina, existem glândulas de resina que contém uma grande quantidade de canabinóides que são compostos químicos ativos dessa planta (ZUARDI AW, 2008).

A *Cannabis Sativa* é uma das plantas medicinais mais antigas do mundo. Essa planta contém mais de 420 constituintes diferentes e mais de 60 fitocanabinoides dos quais estão presentes o Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), que é um dos mais psicoativos, canabidiol (CBD) e o canabinol (CBN). Esses canabinóides são cada vez mais objeto de interesse entre os pesquisadores visto que possuem uma grande variedade de propriedades curativas.

Assim, na década de 1930 foram isolados os primeiros compostos canabinóides: o

canabinol (CBN), seguido do canabidiol (CBD). Após a sua descoberta somente na década de 60 o cientista israelense Rafael Mechoulam determinou a estrutura química do CBD além de isolar outro composto com propriedade psicotomimética, o Δ^9 - tetrahydrocannabinol (THC) (PAIN, 2015).

2.2.2 Sistema endocanabinoide

Devido ao grande interesse em descobrir mais componentes da *Cannabis sativa* vários outros canabinoides foram isolados e, conseqüentemente, houve a descoberta do Sistema Endocanabinoide (SE). O sistema endocanabinoide é composto por uma cadeia de receptores que podem ser encontrados em toda a estrutura corporal. Grande parte dos receptores canabinoides (CBs) são encontrados no sistema nervoso, porém também estão presentes na pele, ossos e tecido conjuntivo. Com o intuito de atingir a homeostase no corpo esses receptores juntamente com a ação dos endocanabinoides presentes no organismo realizam a neurotransmissão.

Existem dois tipos de receptores canabinoides identificados até o momento, CB1 e CB2. O CB1 quando ativado origina os efeitos sobre a circulação e a psique sendo encontrados, principalmente em neurônios do cérebro, medula espinhal e sistema nervoso periférico, embora também estejam presentes em certos órgãos e tecidos periféricos, como glândulas endócrinas, glândulas salivares, leucócitos, baço, coração e em certas áreas dos órgãos reprodutivos, urinária e gastrointestinal.

Após a descoberta desses receptores específicos para canabinoides sugeriu-se que substâncias endógenas que se assemelhavam a canabinoides também poderiam estar presentes no cérebro. Dessa forma, descobriu-se que além dos receptores canabinóides (CB1 e CB2) esse sistema também é constituído pelos ligantes endógenos anandamida (AEA) e 2-araquidonoil glicerol (2-AG), enzimas de síntese e degradação dos ligantes e pelo transportador de anandamida (FOWLER, 2012).

Em 1992, a N-araquidonoil-etanolamida ou anandamida (AEA), primeiro agonista endógeno de ambos os receptores, foi isolado e identificada. Em seguida, outro ligante foi isolado e chamado de 2-araquidonilglicerol (2-AG) (MATSUDA *et al.*, 1990; DI MARZO *et al.*, 1994; HOWLETT, 1998). Atualmente, existem cinco endocanabinóides identificados: a anandamida (N-araconil-etanolamina, AEA), o 2-araconilglicerol(2-AG), noladina, virodamina e N-araconil dopamina, dos quais AEA e 2-AG são os mais estudados (MARCO EM, 2012).

Esses receptores, CB1 e CB2, fazem parte da família de receptores acoplados a proteína G. O CB1 é considerado o receptor acoplado a proteína G mais abundante nas estruturas cerebrais. Já os receptores CB2 estão localizados em células do sistema imune, tecido pulmonar, rins e fígado (IANNOTTI *et al.*, 2016; AIZPURUA-OLAIZOLA *et al.*, 2017). Os endocanabinóides são produzidos por derivados de fosfolipídios e possuem um importante papel na modulação de neurotransmissão agindo como transmissores retrógrados em vários processos fisiológicos como: dor, cognição, regulação do sistema endócrino, função metabólica entre outros (MARCO EM, 2012).

2.2.3 Delta-9-Tetrahydrocannabinol

O principal canabinóide é o componente Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) (figura 3) que possui ação psicoativa da planta e foi identificado pela primeira vez em 1964. O Δ^9 -THC atua, principalmente, sobre o cérebro e é responsável pela indução de alguns sintomas psicóticos. Atualmente, é muito utilizado para tratar náuseas e vômitos que costumam ocorrer em tratamentos de câncer e ajuda a aumentar o apetite e a manter o peso de pacientes com pacientes com Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (SILVA AS, 2005).

Alguns estudos evidenciam alguns efeitos adversos do THC o que acaba limitando o seu uso como, por exemplo, pode destruir as células imunitárias e tecidos do corpo humano. Além disso, pode apresentar disforia, alucinações, pensamento anormal, despersonalização e sonolência. Em 1980, foi demonstrado que o THC apresentava um aumento significativo na ansiedade e outros estudos mostraram que seus efeitos estavam correlacionados com uma diminuição na atividade do cérebro no planejamento de atividades, modulando a função motora e execução de tarefas (NIESINK RJM, 2013).



Figura 3: Estrutura química do Δ^9 -Tetraidrocanabinol

Fonte: Google imagens

2.2.4 Canabidiol

O Canabidiol (figura 4) representa cerca de 40% da *Cannabis sativa* sendo, dessa forma, o segundo componente mais prevalente na planta depois do tetrahydrocannabinol (THC). Esse composto tem afinidade relativamente baixa para receptores CB (PERTWEE1997; PERTWEE *et al.*, 2010). O CBD não está relacionado com os efeitos psicoativos e pode atuar de forma indireta na ativação dos receptores CB1 e CB2, pois demonstra pouca afinidade nesses (ADAMS RHM, 1940).

O CBD apresenta uma farmacologia complexa e possui um grande arsenal de propriedades antipsicóticas, reguladoras do sono, antidepressivas, ansiolíticas, estabilizadoras do humor, antieméticas, antiepiléticas, anti-inflamatórias e analgésicas. Assim, diversos estudos propõem que os efeitos agudos são dependentes da facilitação da neurotransmissão que é mediada pelo receptor de serotonina em locais relacionados a defesa (CRIPPA, 2018).

Alguns estudos, em 1970, sugeriram que o CBD seria um canabinóide não ativo, pois não apresentava os mesmos efeitos da maconha. Porém, essa visão mudou quando se percebeu que a atividade de diferentes extratos da *Cannabis sativa* variavam. Portanto, esse fato levantou a possibilidade de que outros canabinóides poderiam interferir nos efeitos do tetrahydrocannabinol. Por isso, alguns estudos relacionados com a interação entre canabinóides evidenciaram que, dependendo da proporção e dose entre os canabinóides, o CBD bloqueou e potencializou os efeitos do tetrahydrocannabinol (CRIPPA, 2018).

Um estudo realizado por Rottanburg *et al.*, (1982) sugeriu que a alta incidência de psicose que estavam relacionadas com a *Cannabis sativa* ocorria devido ao alto teor de THC e ausência de CBD nas variantes da *Cannabis sativa* na África do Sul. Por isso, estudos

verificaram que o CBD bloqueou o THC a ser convertido para um composto mais psicoativo 11 - hidroxí – THC (NIESINK RJM, 2013). Dessa forma, os primeiros a propor um efeito protetor do CBD nas psicoses induzidas por THC foram Rottanburg *et al.*, (1982). Assim, o CBD é capaz de melhorar as propriedades benéficas do Δ 9-THC e diminuir seus efeitos negativos (FERNANDEZ-RUIZ J, 2013).

Um estudo realizado por Crippa e colaboradores (2010) onde utilizaram voluntários saudáveis, o CBD (1mg/kg) foi administrado por via oral juntamente com uma dose elevada de Δ 9-THC (0,5mg/kg), onde o resultado foi a atenuação significativa da ansiedade. Portanto, os autores sugeriram que devido a dose e a administração simultânea com o THC não foi alterada as concentrações plasmáticas de THC o que sugere um efeito ansiolítico próprio do CBD (CRIPPA, 2010)

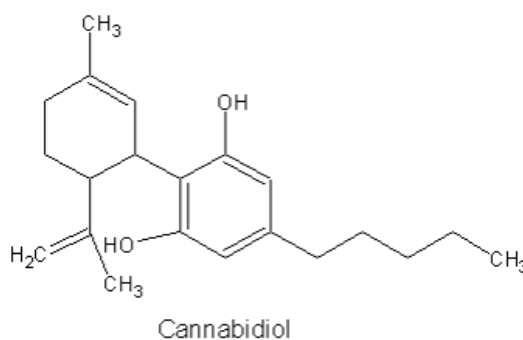


Figura 4: Estrutura química do Canabidiol

Fonte: Google imagens

O canabidiol possui uma estrutura angular produzindo um impedimento estérico o que acaba dificultando a sua ligação ao receptor CB1. Por isso, em comparação com o Δ^9 –THC o canabidiol tem menos afinidade para o receptor CB1 (BURSTEIN *et al.*, 2015). Ademais, o CBD possui uma alta lipossolubilidade (HUESTIS *et al.*, 2005) e por isso apresenta alta distribuição podendo ser acumulado no tecido adiposo e cérebro (REDDY DS *et al.*, 2017).

Devido ao seu metabolismo de primeira passagem o CBD possui uma baixa biodisponibilidade quando administrado por via oral. Por isso, sugere-se que seja administrado junto com alimentos (MILLAR AS *et al.*, 2018). A metabolização do CBD ocorre por vários mecanismos como oxidação, β -oxidação, hidroxilação, conjugação de glicuronídeo e epoxidação e sua eliminação pode ser pela urina na forma não metabolizada ou como um derivado de glicuronídeo (UJVARY I *et al.*, 2015).

Em relação aos receptores, ao contrário do THC o CBD possui baixa afinidade pelos

receptores CB1 e CB2 o que pode explicar a sua falta de atividade psicotrópica. No entanto, o CBD pode atuar em vários receptores como receptor de serotonina 1A (5-HT 1A), o receptor acoplado à proteína G 55 (GPR55), tipo 1 transportador equilibrador de nucleosídeos (ETN1), fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (NRF2), canais de cálcio do tipo T ativados por voltagem, receptores de adenosina e glicina, proteína de ligação a ácidos graxos (FABP), receptores opióides mu e delta e canal de ânions dependente de voltagem 1 (VDAC1), o receptor de potencial transitório vanilóide 1 (TRPV1) (IBEAS *et al.*, 2015).

2.3 CANABINOIDES E MENOPAUSA

Cerca de 75% das mulheres, a partir do início do climatério, apresentam um significativo aumento de peso. Devido a redução de estrógeno e conseqüentemente ao surgimento da menopausa podem ocorrer alterações na distribuição dos depósitos de gordura e, dessa forma, ocorre o aumento na região abdominal (GRAVENA *et al.*, 2013).

Embora exista atualmente uma variedade de opções de tratamento como, por exemplo, a terapia de reposição hormonal que são utilizadas para amenizar os sintomas do climatério, muitas delas apresentam efeitos colaterais negativos como: alterações no humor e até mesmo risco de desenvolver câncer. Por isso, é extremamente importante o estudo de novas estratégias para o tratamento da menopausa que apresentam um menor número de efeitos colaterais (HILL DA *et al.*, 2016).

As literaturas publicadas acerca do uso de canabinoides no tratamento da menopausa é extremamente escassa, mas segundo um estudo realizado no Canadá por Gibson e colaboradores que utilizaram 232 mulheres de meia idade evidenciou que a cannabis foi usada por mais de um quarto das mulheres participantes para o tratamento de sintomas da menopausa. Cerca de 27% usam a *Cannabis* para tratar sintomas como ondas de calor e suores noturnos, insônia e sintomas geniturinários. Nesse sentido, apenas 19% das mulheres participantes do estudo relataram o uso de outras formas tradicionais de controle dos sintomas da menopausa (GIBSON, 2020).

Paralelo a isso, em uma pesquisa sobre o uso de *Cannabis* medicinal durante a perimenopausa e a pós-menopausa realizada por Kathryn Dahlgren e colaboradores (2022) utilizando 258 participantes onde aplicaram um questionário sobre a sintomatologia relacionada à menopausa e uso de *Cannabis*, incluindo modos de uso, tipo de uso e sintomas relacionados a menopausa constataram que a maioria dos participantes relatou uso atual de *Cannabis* (86,1%) e endossou o uso de para sintomas relacionados à menopausa (78,7%) e os

principais sintomas relacionados à menopausa para o uso de *Cannabis sativa* foram distúrbios do sono (67,4%) e humor/ansiedade (46,1%).

Corrêa e colaboradores (2022) utilizaram um modelo experimental de depleção de estrogênio onde ratas ovariectomizadas foram administradas com cannabidiol (CBD) na dose de 10mg/mL durante 14 dias. Os resultados revelaram que o CBD foi capaz de reverter completamente o comprometimento da memória induzida pela depleção de estrogênio. Assim, o Canabidiol pode ser promissor na melhora das falhas de memória causados pela diminuição hormonal do estradiol.

Em um outro estudo realizado por Saberivand e colaboradores (2010) onde analisaram os efeitos da semente de *Cannabis sativa* nos sintomas da menopausa em ratas ovariectomizadas identificaram que todos os animais tratados com a *Cannabis sativa* tiveram uma diminuição da ansiedade e apresentaram resultados positivos no controle dos níveis de LDL e HDL, pois muitas mulheres na pré-menopausa apresentam resultados elevados do LDL e níveis baixos de HDL. Ademais, pesquisas pré-clínicas sugerem que o estrogênio pode modular a ansiedade por meio do sistema endocanabinóide (HILL MN *et al.*, 2007).

Em relação aos sintomas vasomotores como ondas de calor e suores noturnos, alguns estudos como o realizado por Stanley e colaboradores (2014) indicam que terapias à base de canabinóides induzem o vasorelaxamento. Dessa forma, podem aliviar os sintomas vasomotores que são causados pela interrupção dos sistemas de regulação hemodinâmica devido a diminuição de estrogênio.

Em outro, o THC (1 a 5 g mg / kg IV) produziu uma supressão dose-dependente de LH que ocorreu dentro de 1 hora após a administração do medicamento (Marks, 1973). Uma dose muito baixa de THC (62,5 mcg / kg) administrada a ratas ovariectomizadas suprimiram rapidamente a liberação de LH e reduziram a concentração sérica de LH de 40 a 68% (TYREY *et al.*, 1980).

Em macacas rhesus ovariectomizadas com altos níveis basais de LH, uma única dose intramuscular (2,5 mg / kg) de THC significativamente suprimiu os níveis plasmáticos de hormônio luteinizante por 12 a 24 horas. Nas macacas rhesus fêmeas ovariectomizadas, o grau de supressão de LH não foi correlacionado com a dose de THC mas a duração da supressão de LH foi dependente da dose (SMITH *et al.*, 1979).

Nesse sentido, evidenciou-se que o THC pode suprimir os níveis de LH em mulheres na menopausa. Assim, como os surtos de LH durante a menopausa foram correlacionados com a sensação de ondas de calor (fogachos na menopausa) e disforia (TATARYN *et al.*,

1979), foi postulado que uma supressão de LH induzida por *Cannabis sativa* pode ser útil para o tratamento de alguns desses efeitos adversos na menopausa.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento crônico com o derivado da *Cannabis Sativa*, canabidiol, nos sintomas da menopausa em modelo animal.

3.2 Objetivos Específicos

- I) Investigar o efeito do canabidiol no peso corporal, consumo de ração e peso uterino de ratas ovariectomizadas;
- II) Avaliar os níveis hormonais de Estradiol e FSH no sangue de ratas ovariectomizadas tratadas cronicamente com canabidiol;
- III) Acompanhar o ciclo estral de ratas ovariectomizadas tratadas com canabidiol;
- IV) Avaliar cortes histológicos do útero de animais ovariectomizados tratados com canabidiol;
- V) Avaliar o perfil bioquímico (Albumina, Colesterol total, Triglicérides e Magnésio) de animais ovariectomizados tratados com canabidiol;
- VI) Avaliar o efeito do tratamento com canabidiol nos fogachos em animais ovariectomizados.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Este estudo foi do tipo experimental randomizado. Os protocolos experimentais desenvolvidos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Maranhão sob o parecer protocolar de no. Processo 23115.025744/2021-88

4.2 Animais

Foram utilizadas ratas Wistar (55 animais) e camundongos Swiss (55 animais) da espécie *Rattus norvegicus* e *Mus musculus*, respectivamente, provenientes do Biotério Central da UFMA, com 60 dias e pesos variando entre 250 e 300 gramas e 25 e 35 gramas, respectivamente, com acesso ad libitum à comida (ração) e água e, mantidas em ciclos alternados de luminosidade de 12 horas, com temperatura de 20 a 25o C.

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações para o cuidado com animais de laboratório e com as considerações éticas descritas nos protocolos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão e pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

- **Os ratos foram distribuídos em 5 (cinco) grupos conforme descrição a seguir:**

Grupo 1 – Falso operado (sham operated) e tratado com óleo mineral (veículo) via subcutânea: As ratas foram submetidas a uma falsa cirurgia tratadas subcutaneamente com óleo mineral durante 15 dias.

Grupo 2 – Ovariectomizado e tratado com óleo mineral (veículo) por via subcutânea, sendo o veículo utilizado para a solubilização e diluição dos hormônios (efeito placebo), durante 15 dias, em volume de 0,1 ml/ 100g de peso dos animais.

Grupo 3 – Ooforectomizado e tratado com estrogênio por via subcutânea: Após 21 dias da ooforectomia as ratas foram injetadas diariamente, por um período de 15 dias, com o hormônio na dose de 1mg /Kg de peso do animal.

Grupo 4 – Ooforectomizado e tratado com dose menor da associação de canabidiol e estrogênio por via intraperitoneal e subcutânea respectivamente: As duas drogas, após 21 dias

da ooforectomia, foram administradas nas ratas diariamente, por um período de 15 dias, com o hormônio na dose menor de 0,5mg /ml de peso do animal e o canabidiol na micro dose de 5mg/ml.

Grupo 5 – Ooforectomizado e tratado com canabidiol: Os animais foram administrados, por via intraperitoneal na dose de 10 mg/ml.

- **Os camundongos foram distribuídos em 5 (cinco) grupos conforme descrição a seguir:**

Grupo 1 – Falso operado (sham operated) e tratado com salina (veículo) via oral: As camundongas foram submetidas a uma falsa cirurgia e tratadas com salina por via oral por um período de 15 dias

Grupo 2 – Ovariectomizado e tratado com salina (veículo) por via oral, sendo o veículo utilizado para a solubilização e diluição dos hormônios (efeito placebo), por um período de 15 dias ,em volume de 0,1 ml/ 100g de peso dos animais.

Grupo 3 – Ooforectomizado e tratado com estrogênio por via subcutânea: Após 21 dias da ooforectomia as camundongas foram injetadas diariamente, por um período de 15 dias, com o hormônio na dose de 1mg /Kg de peso do animal.

Grupo 4 – Ooforectomizado e tratado com dose menor da associação de canabidiol e estrogênio por via intraperitoneal e oral respectivamente: As duas drogas, após 21 dias da ooforectomia, foram administradas nas camundongas diariamente, por um período de 15 dias, com o hormônio na dose menor de 0,5mg /ml de peso do animal e o canabidiol na dose menor de 5mg/ml.

Grupo 5 – Ooforectomizado e tratado com canabidiol: Os animais foram administrados, por via intraperitoneal na dose de 10 mg/ml.



Figura 5: Administração de CBD via intraperitoneal em camundongos

Fonte: Própria do autor, 2023.



Figura 6: Administração de Estradiol por via oral(Gavagem) em camundongos

Fonte: Própria do autor, 2023.

4.3 Drogas Utilizadas

Utilizou-se o estrogênio 1 mg em forma de comprimido com nome comercial Natifa® que foi triturado e, posteriormente, diluído em óleo mineral para aplicação via subcutânea. Em nosso estudo, houve a substituição do Tetrahydrocannabinol pelo Canabidiol (CBD) (fornecido pela USP de Ribeirão Preto, Pur Med Global- USA). O Canabidiol foi diluído em solução salina, Tween 80 e éter na proporção de 1:1:18.

4.4 Cirurgias de Falso-Operado (Sham) e Ooforectomia

As ratas e camundongas foram submetidas a um procedimento cirúrgico e mantidas com anestesia por cetamina/xilasina (60/7,5 mg/kg, intraperitoneal). Foi feita a assepsia da região ventral dos animais (supra-púbica) para posterior laparotomia de aproximadamente 2 cm na linha mediana. Os ovários e as trompas foram identificados. Os ovários foram isolados e retirados. Posteriormente a incisão foi suturada. Animais falso-operados (sham) foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, mas os ovários e as trompas permaneceram intactos.

4.5 Determinação do ciclo estral

A determinação das fases do ciclo estral das ratas realizara-se sempre pela manhã por meio da análise do esfregaço vaginal no período de 21 dias após a cirurgia e depois para iniciar o tratamento 3 vezes na semana para verificar se o animal não está ciclando, ou seja, se está permanentemente na fase diestro (menopausa). A coleta da secreção vaginal foi realizada com o auxílio de uma cureta que foi introduzida na vagina das ratas em profundidade de aproximadamente 0,5 cm de intróito vaginal. O material colhido foi colocado em lâmina de vidro e corado coloração de Papanicolau para o exame dos elementos citológicos, ao microscópio óptico.

Foram analisadas as seguintes fases do ciclo estral (figura 7):

a) Diestro: Caracterizada pela presença, em campo microscópico, de abundantes leucócitos e escassas células epiteliais basais.

b) Proestro: Fase que apresenta escassos leucócitos, abundantes células epiteliais de núcleo redondo e volumoso e citoplasma basófilo; escassas células cornificadas do extrato superior. Esta fase na rata dura aproximadamente 12 horas.

c) Estro: Nesta fase ocorre a atividade estrogênica máxima e, microscopicamente, observam-se escassos leucócitos e células epiteliais e, aumento no número de células cornificadas, que apresentam núcleos picnóticos e citoplasma eosinófilo.

d) Metaestro: Esta fase se inicia com a regressão do epitélio vaginal. Gradativamente vão desaparecendo as células cornificadas e aumentando o número de leucócitos e de células epiteliais basais.

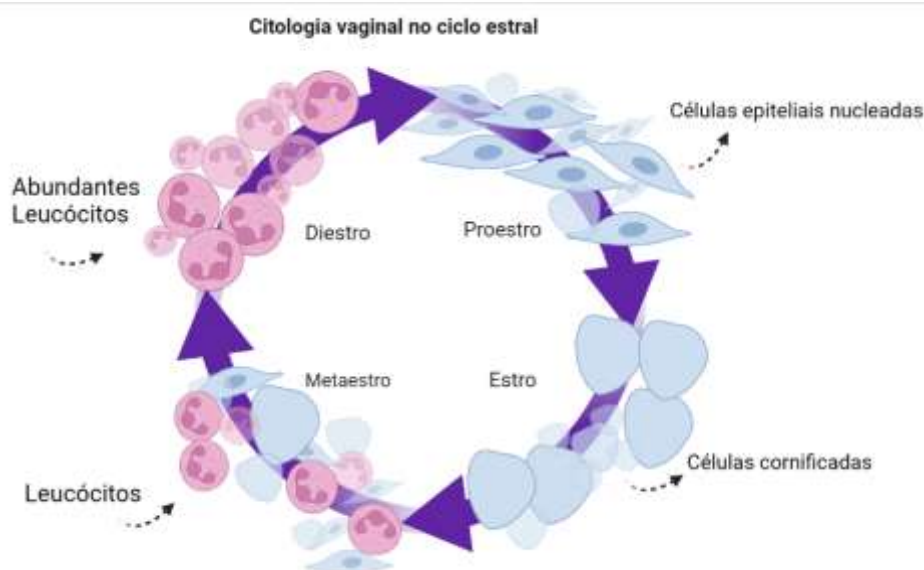


Figura 7: Representação esquemática do Ciclo estral da rato

Fonte: Própria do autor, 2023.

4.6 Determinação do consumo de ração dos animais

A gestão do consumo de ração das ratas foi realizada durante todo o experimento em dias alternados na semana. Foi ofertada 400g de ração na frequência de duas vezes na semana. As sobras de ração foram pesadas e subtraídas pela quantidade total ofertada e divididas pela quantidade de ratas em cada gaiola e pelo número de dias em que foi consumida. Por meio desse cálculo foi possível determinar o consumo de ração diária por rato em cada gaiola. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão para cada grupo experimental.

4.7 Determinação do peso corporal dos animais

Durante todo o período de tratamento foi realizado o controle de peso corporal e ingestão alimentar das ratas sempre pela manhã. Foi feito o controle de ração e peso corporal duas vezes na semana. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão para cada grupo experimental.

4.8 Coleta de sangue para ensaio de dosagens hormonais e bioquímica

Amostras de sangue foram coletadas a partir do arco aórtico utilizando seringas o plasma será imediatamente separado por centrifugação a 2000 g, a temperatura ambiente 23°C durante 20 min. Os níveis plasmáticos dos hormônios estradiol e FSH foram dosados pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, Abbott Laboratories, Illinois,

E.U.A.) e a reação foi realizada de acordo com as instruções dos fabricantes. Também foram realizadas dosagens quantitativas utilizando-se o espectrofotômetro para a determinação dos seguintes parâmetros bioquímicos: Albumina, Colesterol total, Triglicerídeos e magnésio; utilizando-se a técnica, comprimento de onda e referências de acordo com o elemento dosado e orientação do fabricante dos reagentes (LABTEST®). Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão para cada grupo experimental.

4.9 Determinação do tecido adiposo e peso uterino das ratas

Após a eutanásia das ratas foram isolados e retirados em toda a sua extensão o tecido adiposo e os cornos uterinos para pesagem na balança analítica. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão para cada grupo experimental.

4.10 Análise histológica para coloração de Hematoxilina e Eosina (H&E).

As amostras desses animais foram coletadas para análise histológica fixada à formalina a 10% durante 48hs. Para realização da emblocagem, os tecidos foram submetidos a desidratação através da seguinte sequência de graduações alcoólicas: álcool 70%, 90% e dois banhos em 100%. Após isso, a amostra passou por mais dois banhos em xilol 100%. Finalizando esse processo, as amostras passaram por dois banhos de parafina e depois emblocadas em parafina de forma manual.

Os blocos de parafina foram cortados em secções de 2 μm a 5 μm de espessura e corados com Hematoxilina e Eosina (H&E) para avaliação posterior sob um microscópio óptico. Os resultados foram expressos como a percentagem de animais mostrando um tipo histológico específico dentro do número total de animais em cada grupo.

4.11 Registro da temperatura caudal e processamento

A temperatura da pele da cauda foi medida através do equipamento *Thermal Imager* TH9260 através de luz infravermelha com lentes de vidro (NEC *San-ei Instruments Limited, Japan*). A distância óptica para uma medida térmica adequada foi estabelecido para ser entre 16-25 cm. Os animais foram mantidos em contenção (figura 8), com prévia ambientação dos mesmos, em um contensor LE5014. Durante os experimentos, as imagens térmicas foram tiradas no começo do experimento (tempo 0) onde ocorre o pico do fogacho. Todas as medidas de temperatura caudal foram realizadas entre 08:00 e 18:00. Para o processamento da

imagem, o software *Reporter Generator Lite* será utilizado (NEC *San-ei Instruments Limited, Japan*). Para a comparação de tamanho entre as figuras e para a determinação da distância desde a base da cauda para o ponto da medida, um clip metálico foi colocado no plano focal, servindo como referência. Nos experimentos de temperatura, foi medido 0.8 cm da base da cauda como uma temperatura média em uma área de 0.25 x 0.25 cm. Os resultados foram expressos como a média e desvio padrão para cada grupo experimental.



Figura 8: Contenção do camundongo para medida da temperatura caudal.

Fonte: Própria do autor, 2023.

4.12 Exercício forçado para indução de fogachos/ondas de calor em camundongos

Primeiramente, os animais foram condicionados durante 3 semanas na esteira com velocidade ascendente (Fig.9) após a ovariectomia. Durante o condicionamento, após a corrida, os animais foram acomodados em um contêntor aonde permaneceram durante cinco minutos (basal). No dia do experimento, os animais foram forçados a correr e após isso foram contidos durante 5 minutos somente para a medida da temperatura da cauda. A temperatura da cauda foi comparada com a média da temperatura da cauda medida de acordo com a essa equação: ΔTST ($\Delta TST = (\text{temperatura da cauda}) - (\text{média da temperatura basal})$).

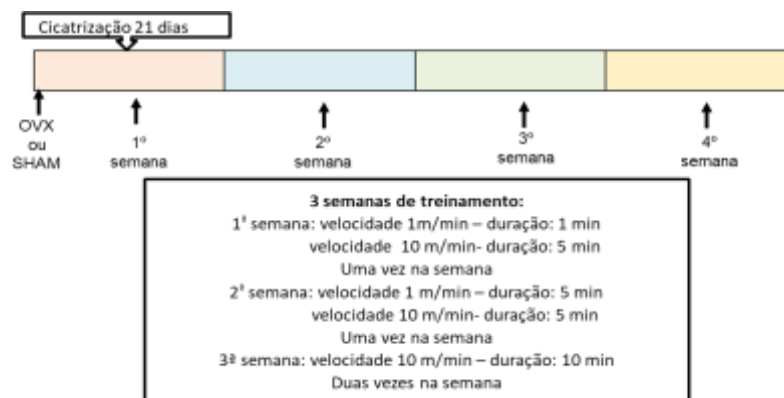


Figura 9: Fluxograma de treinamento dos animais para condicionamento

Fonte: Própria do autor, 2023.



Figura 10: Treinamento de camundongos na esteira

Fonte: Própria do autor, 2023.

4.13 Análises Estatística

Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA *One-Way*) de duas vias (*Two-way*) para medidas repetidas, seguida do teste de Tukey, para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de 5% ($p=0,05$). Todos os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o programa estatístico *GraphPad Prism version 8.00 for Windows*, San Diego, California, E.U.A.

5 ASPECTOS ÉTICOS

Em conformidade com as normas para pesquisa envolvendo animais este estudo encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão com o processo nº 23115.025744/2021-88. Com o intuito de amenizar o sofrimento dos animais durante o experimento o número de animais por gaiola foram de 4 (quatro) e utilizou-se analgésicos e antibióticos após as cirurgias.

6 RESULTADOS

6.1 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS NO PESO CORPORAL.

Em relação ao acompanhamento do ganho de peso, conforme se observa na figura 11, no tempo 1 e 2 apenas os grupos falsos operados apresentaram significância estatística em relação a todos os grupos ovariectomizados permanecendo até o final do tratamento (#). No tempo 3 ocorreu significância estatística do grupo OVX tratado com estrogênio em relação ao grupo OVX tratado com canabidiol permanecendo dessa forma consecutiva até o tempo 6 (###). A partir do tempo 4 até o tempo 6 o grupo OVX tratado com canabidiol apresentou significância estatística em relação ao grupo OVX tratado com associação de estrogênio e canabidiol (####). No tempo 7 só houve significância estatística nos grupos falso operados em comparação aos demais.

Dessa forma, no que tange ao peso dos animais no fim do protocolo experimental (figura 12) é possível observar que o grupo Sham tratado com óleo mineral apresentou o menor peso dentre todos os outros grupos de forma estatisticamente significativa. Ainda ao observarmos o grupo controle OVX veículo percebeu-se um aumento do peso corporal, esse aumento foi discretamente diminuído no grupo tratado com estrogênio e também no grupo tratado com baixas doses da associação de estrogênio e canabidiol apresentando significância estatística.

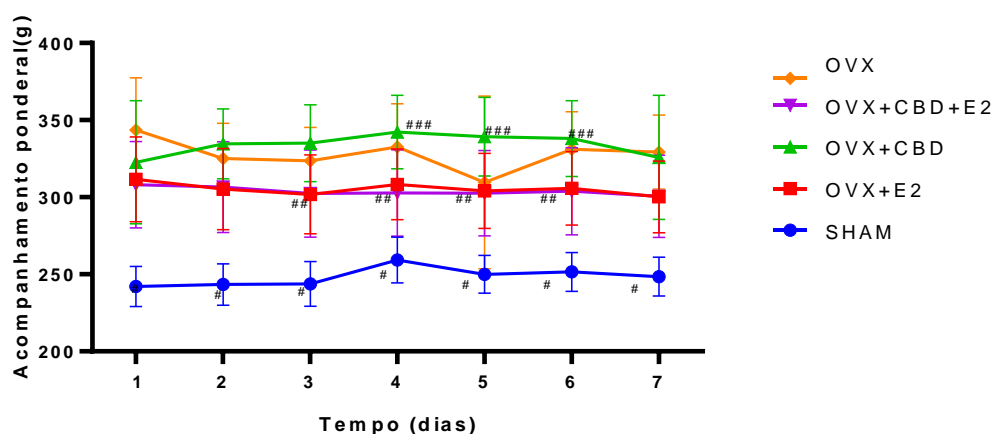


Figura 11: Acompanhamento ponderal em dias de ratas Wistar do grupo Falso-operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2 0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais

representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10).

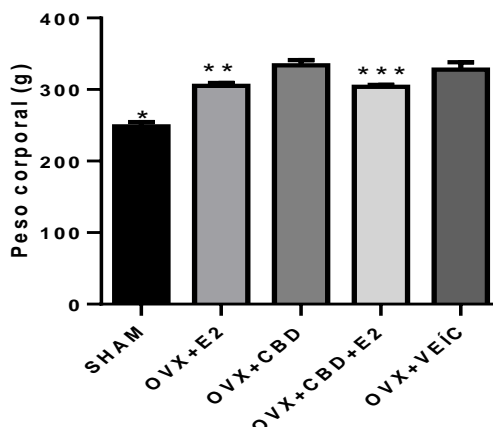


Figura 12 : Peso corporal de ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2 0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10). b) Peso corporal total: * quando comparado com OVX+E2, OVX+CBD, OVX+CBD+E2 e OVX+VEÍCULO ** quando comparado com OVX+CBD e OVX veículo *** quando comparado a OVX+CBD e OVX+VEÍCULO.

6.2 Efeito do tratamento com CBD em ratas ovariectomizadas em relação ao consumo total de ração.

Ao analisarmos a figura 13, é possível notar que o grupo OVX tratado com baixas doses da associação de canabidiol e estrogênio consumiu menos ração total que os demais grupos. O CBD isoladamente não alterou significativamente o consumo de ração em relação aos animais OVX nem Sham.

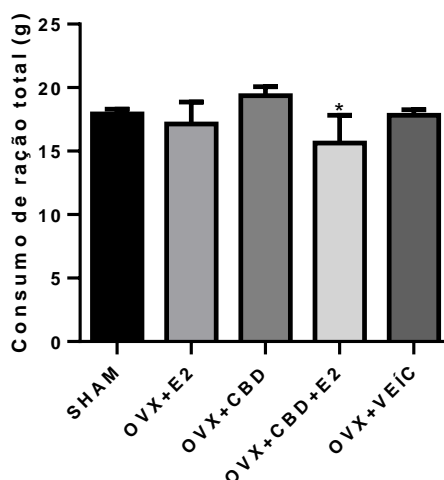


Figura 13: Consumo total de ração de ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol

(CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2 0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10) A) Consumo total de ração * em comparação ao SHAM e OVX+CBD.

6.3 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE O PESO DO TECIDO ADIPOSEO E DO ÚTERO.

Com relação ao tecido adiposo conforme a figura 14-A é possível observar que todos os ovariectomizados apresentaram aumento significativo em relação ao grupo Sham. O grupo OVX veículo apresentou um grande aumento no tecido adiposo e esse aumento foi reduzido nos grupos em que os animais foram tratados apenas com estrogênio. Ademais, nota-se um grande aumento de tecido adiposo no grupo tratado apenas com canabidiol, porém esse aumento foi significativamente diminuído no grupo tratado com a associação de baixas doses de estrogênio e canabidiol.

No que tange ao peso uterino conforme demonstrado na figura 14-B foi possível observar que a ovariectomia induziu a diminuição do órgão. Assim, nota-se que o grupo Sham apresentou significância estatística em relação a todos os outros grupos. Ademais, o grupo OVX veículo, como esperado, foi o que apresentou maior atrofia uterina dentre os ovariectomizados e essa atrofia foi diminuída no grupo tratado apenas com estrogênio. No entanto, ao observarmos o grupo tratado com associação de baixas doses de estrogênio e canabidiol essa atrofia foi significativamente mais reduzida em comparação a todos os outros grupos submetidos a ovariectomia.

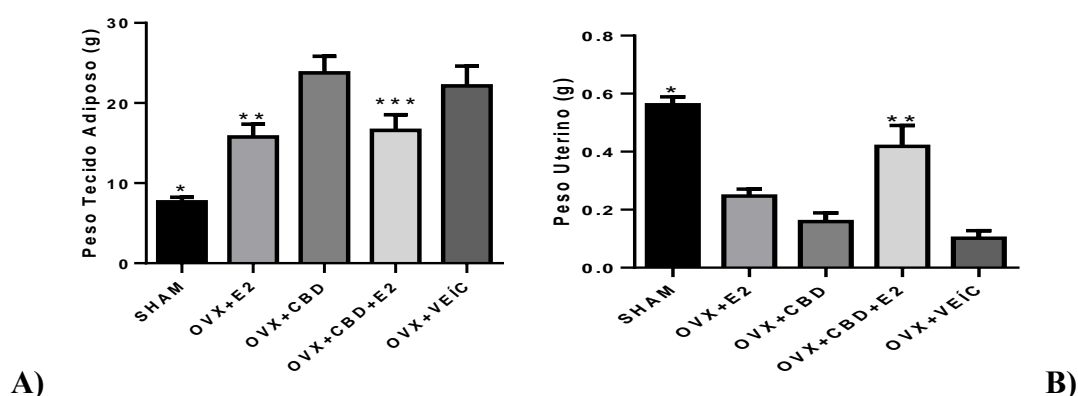


Figura 14: Efeito do tratamento de 15 dias na determinação do tecido adiposo e peso uterino de ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2

0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10). A) Peso tecido adiposo: * quando comparado com OVX+E2, OVX+CBD, OVX+CBD+E2 e OVX+VEÍCULO ** quando comparado OVX+ CBD. *** quando comparado a OVX +CBD. B) Peso uterino: * Quando comparado com OVX+E2, OVX+CBD, OVX+CBD+E2 ($p<0,0001$) ** quando comparado a OVX+E2($p=0,0371$), OVX+CBD ($p=0,0006$) e OVX +VEÍCULO($p=0,0002$).

6.4 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIETOMIZADAS SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE COLESTEROL TOTAL E TRIGLICÉRIDEOS.

Em relação aos níveis séricos de colesterol total, conforme figura 15-A, observa-se que todos os grupos tiveram diferença significativa em relação ao grupo Sham.

Ademais, a respeito do grupo OVX controle nota-se que, apesar de não apresentar diferença significativa, houve um aumento expressivo em comparação aos grupos tratados apenas com estrogênio e o grupo tratado com associação de baixas doses de estrogênio e canabidiol. Ainda se nota que o grupo tratado com baixas doses de associação de estrogênio e canabidiol apresentaram significância estatística em relação ao grupo tratado apenas com canabidiol.

No que diz respeito aos triglicerídeos, houve significância estatística do grupo OVX+CBD comparado ao grupo OVX+E2. Apesar de não apresentar diferença estatística significativa, observou-se que o grupo OVX tratado com CBD estava diminuído em comparação aos outros grupos ovariectomizados conforme a figura 15-B.

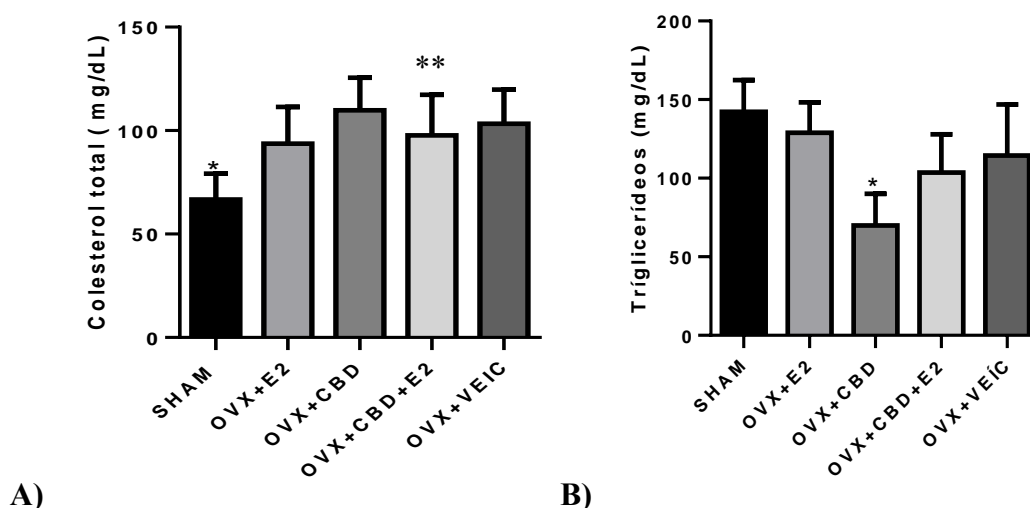


Figura 15: Efeito do tratamento de 15 dias na determinação de colesterol total e triglicerídeos de ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2

0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10). A) Colesterol Total: * quando comparado com OVX+E2, OVX+CBD, OVX+CBD+E2, OVX+VEÍCULO. ** quando comparado ao OVX+CBD B) Triglicerídeos: *quando comparado ao OVX +E2 (P<0,0001).

6.5 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE ALBUMINA E MAGNÉSIO.

Conforme a figura 16 os níveis séricos de albumina e magnésio não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os animais

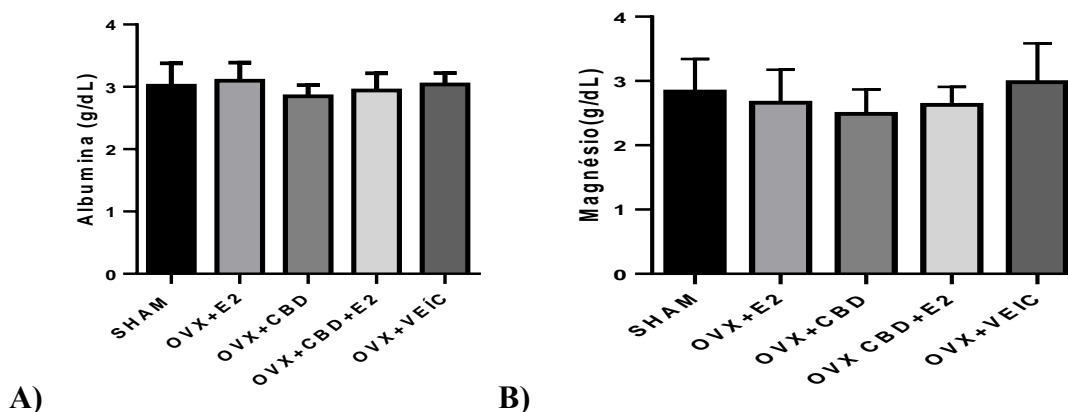


Figura 16 : Efeito do tratamento de 15 dias na determinação de Albumina e Magnésio em ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2 0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10).

6.6 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM CAMUNDONGAS OVARIECTOMIZADAS SOBRE A CICLICIDADE ESTRAL.

O ciclo estral foi avaliado através da proporção de quatro tipos celulares a fim de detectar qual fase se encontrou predominante durante o período de tratamento.

Nesse sentido, em relação aos efeitos dos tratamentos sobre a ciclicidade estral foi possível observar que os animais sham tratados com óleo mineral atravessaram normalmente todas as fases do ciclo: proestro, metaestro, estro e diestro. Inversamente, quando observamos o grupo ovariectomizado tratado com óleo mineral subcutâneo identificamos que permaneceu uma grande parte na fase Diestro (73,91%).

Nos animais ovariectomizados tratados com estrogênio houve também uma maioritária permanência na fase Diestro (64%). O tratamento com canabidiol e canabidiol

com estrogênio apresentaram frequências de, respectivamente, 58,3% e 57,14% na fase estro.

Tabela 1: Frequência de fases do ciclo estral de cada grupo no período de tratamento de 15 dias com canabidiol.

GRUPOS/FASES	PROESTRO		METAESTRO		ESTRO		DIESTRO		TOTAL
	N	%	N	%	N	%	N	%	
SHAM+VEÍC	24	29,62	20	24,69	22	27,16	15	18,51	81
OVX+VEÍC	0	0	0	0	6	26,08	17	73,91	23
OVX+E2	0	0	0	0	9	36	16	64	25
OVX+CBD	0	0	0	0	14	58,3	10	41,6	24
OVX+CBD+E2	0	0	0	0	12	57,14	9	42,85	21

Fonte: Própria do autor, 2023.

6.7 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM CAMUNDONGAS OVARIETOMIZADAS SOBRE O MODELO DE FOGACHOS INDUZIDO ATRAVÉS DE EXERCÍCIO NA ESTEIRA.

Em relação a variação de temperatura cutânea é possível observar que todos os grupos, independente do tratamento, apresentaram significância estatística em relação ao grupo Sham, pois este mostrou uma variação de temperatura menor em comparação com os demais. Ainda, o grupo OVX veículo teve uma variação aumentada em comparação aos grupos OVX tratado com estrogênio e o grupo OVX tratado com canabidiol, porém sem significância estatística. O grupo OVX tratado com estrogênio apresentou uma variação menor quando comparado ao grupo OVX controle e OVX tratado com CBD e E2 apresentando significância estatística com esse último. Assim, também foi possível observar que dentre os grupos ovariectomizados o grupo tratado com canabidiol foi o que apresentou a menor variação de temperatura apresentando significância estatística com o OVX+CBD+E2.

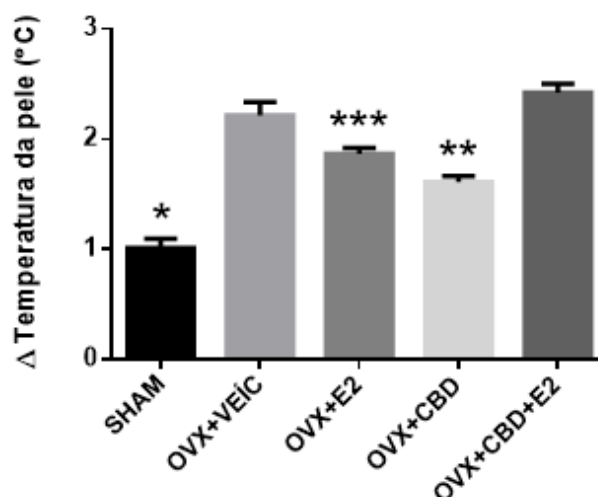
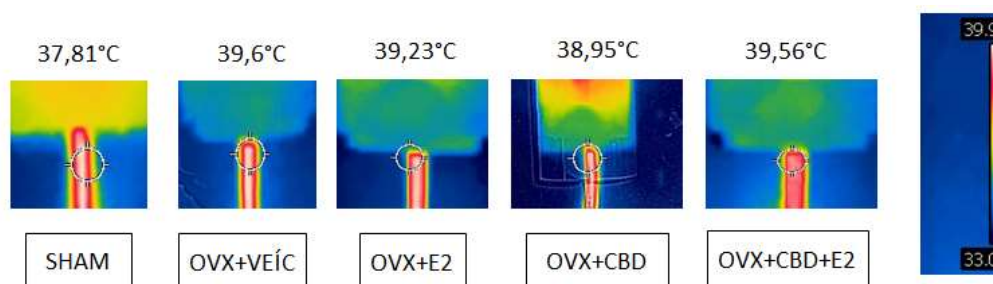


Figura 17: Aumento da temperatura cutânea induzida pelo exercício para indução de fogacho em camundongas falso operadas (VEIC) e ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD. A mudança de temperatura foi calculada subtraindo a temperatura basal da pele da temperatura observada após o exercício forçado para indução de fogacho. Os resultados são exibidos como médias \pm erro padrão das médias. $P < 0,0001$; *SHAM em relação à todos os grupos **CBD X OVX e OVX X CBD+E2 ***E2 X CBD+E2.

As imagens de termograma representam de maneira esquemática as mudanças nas temperaturas no primeiro minuto após a retirada dos animais após o exercício forçado na esteira. Com base nisso, é possível observar que os animais Sham apresentaram uma redução significativa na temperatura caudal em comparação a todos os grupos ovariectomizados, independente do tratamento.



Fonte: Autor próprio, 2023.

Figura 18: Termograma representativos da temperatura da pele da cauda logo após a indução dos fogachos através do exercício na esteira de camundongas falso operadas (VEIC) e ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD.

6.8 EFEITO DO TRATAMENTO COM CBD EM RATAS OVARIECTOMIZADAS EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS HORMONAIS DE ESTROGÊNIO E FSH.

Acerca dos níveis hormonais de estrogênio nota-se que o grupo OVX VEÍCULO controle e o grupo OVX tratado apenas com estrogênio apresentaram níveis diminuídos em

comparação ao grupo Sham. O grupo ovariectomizado tratado apenas com canabidiol apresentou um aumento significativo e no grupo tratado com baixa dose da associação de estrogênio e canabidiol os níveis de estrogênio foram maiores ainda.

Em relação aos níveis de FSH foi possível observar que o grupo OVX Veículo controle e o grupo OVX tratado apenas com canabidiol apresentaram diferença significativa em relação ao grupo Sham.

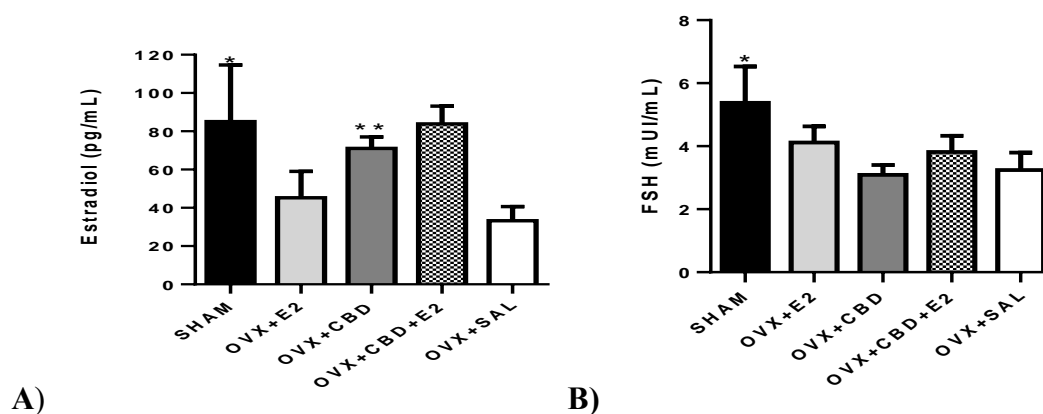


Figura 19: Efeito do tratamento de 15 dias na determinação dos níveis hormonais de estrogênio e FSH de ratas Wistar do grupo Falso- operado (SHAM) que receberam Óleo mineral, ovariectomizadas (OVX) administradas com óleo mineral, ovariectomizadas tratadas com Canabidiol (CBD, 10mg/kg, via intraperitoneal), ovariectomizadas tratadas com dose menor de Canabidiol (CBD, 5mg/kg, via intraperitoneal) e com dose menor de Estrogênio (E2 0,5mg/kg, via subcutânea) e ovariectomizadas tratadas com Estrogênio (E2 1mg/kg, via subcutânea). As colunas e barras verticais representam, respectivamente, as médias \pm erro padrão das médias (n=10). A) Níveis de estradiol: * em comparação com OVX + VEÍCULO e OVX+E2 ** quando comparado com OVX+VEÍCULO B) Níveis de FSH: * quando comparado a OVX+VEÍCULO e OVX+ CBD.

6.9 ANÁLISES HISTOLÓGICA DO TECIDO UTERINO EM RATOS OVARIECTOMIZADOS TRATADOS COM DERIVADO DA *Cannabis sativa* (CANABIDIOL).

A análise histológica do útero mostrou tecidos uterinos normais nos animais Sham, com glândulas endometriais longas e tortuosas por entre estroma ricamente celular (Figura 19). No grupo OVX salina, pelo contrário, o útero apresentou-se muito reduzido no seu diâmetro, com intensa fibrose do endométrio e miométrio. As glândulas endometriais apresentaram-se muito encurtadas e rectilíneas e o epitélio de superfície mais baixo, cuboide. Nos grupos tratados com estrogênio, CBD ou os dois compostos em combinação, houve recuperação de aspectos da morfologia uterina, com menos fibrose e maior celularidade do estroma endometrial e maior desenvolvimento das glândulas endometriais, inclusivamente

com acumulação de material de secreção no lúmen glandular e uterino. No grupo tratado com a combinação de estrogênio e CBD, notou-se também uma recuperação do epitélio de superfície, que se tornou colunar alto, simples ou pseudoestratificado.

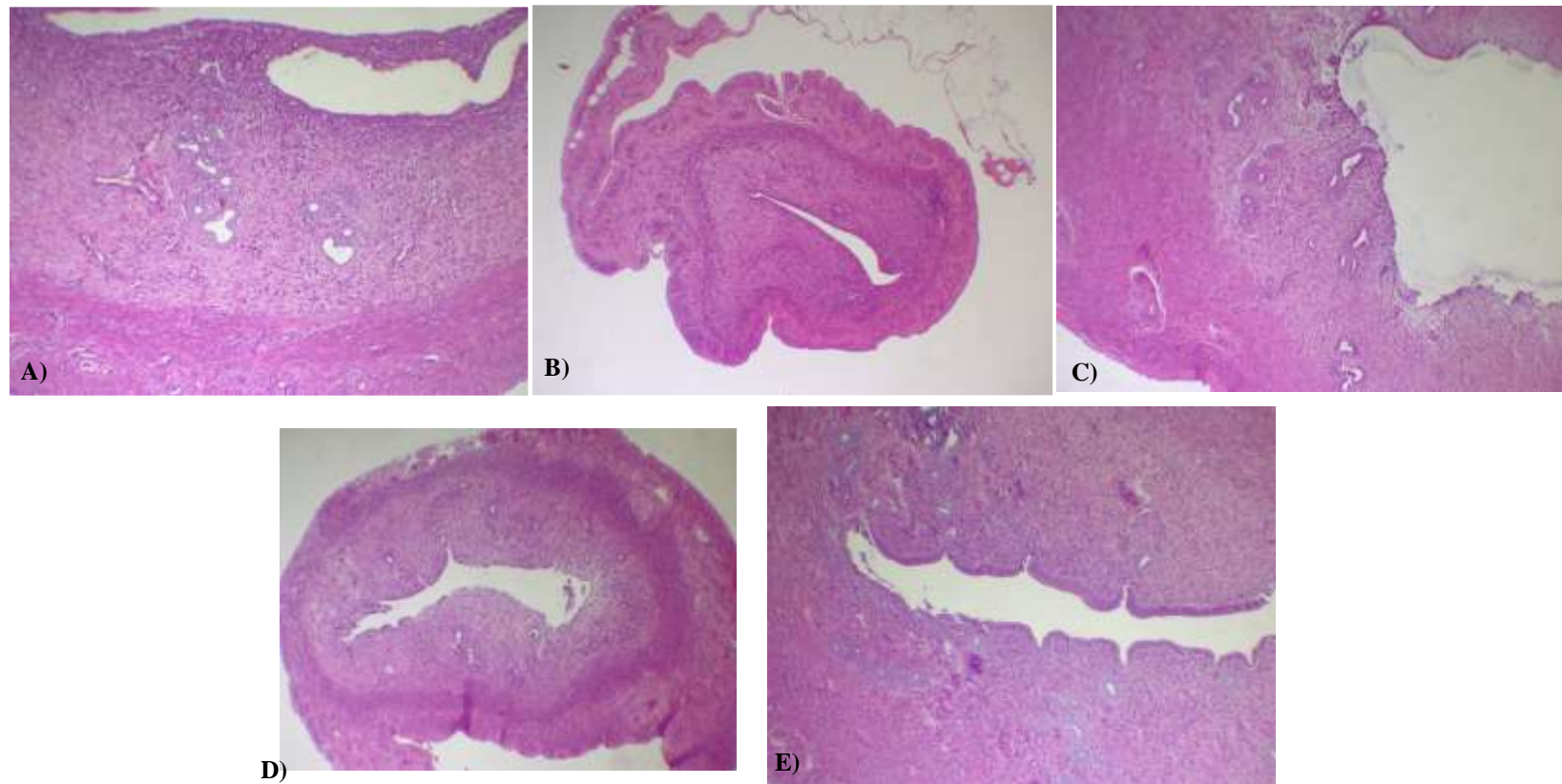


Figura 20: Análises histológica do tecido uterino de ratas Wistar Falso- operada (VEIC) ou ovariectomizadas tratadas com salina, E2 ou CBD. **A:** Grupo Sham na objetiva de 100x o endométrio consiste em células epiteliais altas de camada únicas; as células do estroma do endométrio estão bem organizadas e fusiformes; **B:** Grupo OVX VEÍCULO na objetiva de 100x o útero apresenta características atróficas com atrofia do endométrio, fibrose do estroma, redução de celularidade, encurtamento da glândula, redução da espessura do miométrio e fibrose do perimétrio ; **C:** Grupo OVX tratado com estrogênio na objetiva de 100x apresentou alta celularidade, epitélio baixo e fibrose ; **D:** Grupo OVX tratado com cannabidiol apresenta fibrose, preservação das glândulas, estroma, miométrio e endométrio endométrio apresentou epitélio baixo ; **E:** Grupo OVX tratado com cannabidiol e estrogênio na objetiva de 100x apresentou celularidade elevada, epitélio alto, endométrio muito ativo e epitélio pseudo estratificado.

7 DISCUSSÃO

No nosso estudo, notou-se que os animais tratados com canabidiol tiveram um maior consumo de ração isso se refletiu diretamente quando analisamos o peso corporal e o peso do tecido adiposo desse grupo que apresentou um aumento significativo tanto do peso corporal quanto do tecido adiposo quando comparado aos demais grupos. No entanto, foi possível notar que o grupo tratado com baixas doses de associação de canabidiol e estrogênio apresentou uma redução do consumo de ração, peso corporal e peso do tecido adiposo quando comparado ao grupo tratado apenas com canabidiol.

A transição da menopausa está diretamente associada a alterações metabólicas no tecido adiposo o que pode contribuir para o acúmulo de gordura corporal após a menopausa. Devido a grande capacidade de secretar adipocitoses e substâncias diretamente relacionadas a doenças metabólicas como, por exemplo: resistência à insulina, diabetes tipo 2 e síndrome metabólica, a gordura abdominal pode ser considerada um órgão endócrino. A transição da menopausa está diretamente associada a alterações metabólicas no tecido adiposo o que pode contribuir para o acúmulo de gordura corporal após a menopausa (MISSO ML *et al.*, 2005).

Isso se evidencia porque após a retirada dos ovários ocorre, consequentemente, uma diminuição nos níveis de estrogênio, pois uma das funções desse hormônio é participar de forma direta sobre o controle do consumo de alimentos pelo hipotálamo (JELLENICK *et al.*, 2013). Dessa forma, como relatado por Asarian L e Geary N (2013), devido a perda dos níveis de estrogênio ocorre o aumento da ingestão alimentar, do peso corporal e bloqueio completo do efeito inibitório alimentar usual do estradiol em ratos ovariectomizados.

No nosso estudo, apesar de não apresentar significância estatística, foi notório que os animais tratados apenas com Canabidiol consumiram mais ração quando comparado com os demais grupos, sendo eles falso operado ou ovariectomizados. Isso pode ser evidenciado, pois o sistema endocanabinóide participa diretamente no controle central do apetite, ingestão de alimentos e balanço energético e todos esses efeitos são modulados pelo receptor CB1 (PAGOTTO U *et al.*, 2006). Ainda, é possível observar que no grupo tratado com baixas doses de associação de estrogênio e canabidiol o consumo de ração foi menor do que todos os outros grupos ovariectomizados e apresentou significância estatística em relação ao grupo SHAM e OVX+CBD.

Estudos indicam que os canabinoides podem estar envolvidos com a estimulação do apetite sendo responsáveis pela homeostase energética do corpo. Os receptores CB1 regulam

a ingestão alimentar e com a participação dos neurônios hipotalâmicos que secretam os moduladores da ingestão alimentar. Estudos indicam que o aumento do apetite causado pelos canabinóides se dá pelo aumento da expressão e produção de neuropeptídeo Y (NPY) e a diminuição da atividade do fator liberador de corticotropina (CRF) (KOZAKOWSKI J. *et al.*, 2008).

Antigamente, acreditava-se que o receptor CB1 estava presente apenas nas estruturas cerebrais e que o CB2 estava apenas em células imunes. Porém, recentemente tem-se descoberto que ambos os receptores CB1 e CB2 estão expressos no cérebro e também em tecidos periféricos como fígado, músculo esquelético, coração, intestino, osso e tecido adiposo (V. DEVEAUX *et al.*, 2009).

Apesar de a maioria dos interesses em relação ao sistema endocanabinoide na ingestão alimentar ter se concentrado apenas no receptor CB1 estudos recentes indicam o CB2 como um importante aliado na regulação do comportamento alimentar, peso corporal e distúrbios metabólicos da obesidade (V. DEVEAUX *et al.*, 2009).

O THC tem um efeito orexígeno muito potente e vem sendo utilizado desde 1990 para o tratamento de perda de apetite e caquexia em pacientes com AIDS e câncer como evidenciado nos estudos de Beal *et al.*, (1995) e Plasse *et al.*, (1991). No entanto, em estudos posteriores foi descoberto que a alimentação pode ser suprimida por meio do bloqueio do receptor canabinoide (CURIONI *et al.*, 2006). O exemplo disso foi o rimonabant que foi um agonista inverso do receptor CB1 seletivo que aprovado para o tratamento da obesidade pela *Food and Drug Administration* e pela *European Medicines Agency*, porém devido a seus efeitos colaterais psiquiátricos essa droga foi retirada (SAM *et al.*, 2011). Estudos demonstram que o CBD também atua como agonista inverso do receptor CB1 em baixas concentrações e, por isso, parece ter um efeito anorexígeno. Porém, ainda é necessário mais estudos que comprovem tais efeitos (PERTWEE *et al.*, 2008).

Apesar dos canabinóides serem conhecidos por apresentarem efeitos orexígenos mediados pelos receptores CB1 e CB2, por meio das evidências disponíveis é demonstrado que o CBD pode ter um efeito anorexígeno que é mais bem identificado em indivíduos com IMC (índice de massa corporal) mais alto, ou seja, pode diminuir a ingestão alimentar. Em um estudo realizado por Wierucka-Rybak e colaboradores (2014), onde foi analisado o efeito do CBD na ingestão de alimentos e ganho de peso em ratos onde administraram CBD (3 mg/kg) por 3 dias a ratos mantidos em uma dieta padrão (SD), dieta rica em gordura (HFD) ou dieta de livre escolha (FC; alta sacarose). Nos ratos que tiveram uma dieta rica em gordura

aumentam o peso corporal, mas tiveram uma redução na ingestão de alimentos. No entanto, os ratos alimentados com dieta de livre escolha o CBD não teve uma alteração significativa no consumo de alimentos e peso corporal.

Outro estudo utilizando CBD (2,5 e 5 mg/kg) mostrou diminuição no ganho corporal de ratos, o que demonstrou um resultado contraditório. Assim, esse estudo revelou a capacidade do CBD de diminuir o ganho de peso corporal através dos receptores CB2 levantando a hipótese de que esse receptor pode desempenhar um grande papel na regulação peso corporal (IGNATOWSKA-JANKOWSKA B *et al.*, 2011).

De acordo Silvestri e colaboradores (2015), o CBD reduziu o acúmulo de triglicerídeos em adipócitos 3T3-L1 tratados com ácido oleico (AO) dependendo da dose e tempo. Dessa forma, esses resultados demonstram uma possível relação do CBD com a indução da lipólise. Em um outro estudo realizado por Riedel e colaboradores (2009) o CBD (10 mg kg⁻¹) induziu uma pequena redução não significativa na ingestão de alimentos de ratos.

Devinsky e colaboradores (2018) realizaram um estudo em que utilizaram 34 crianças com o objetivo de investigar a segurança e a farmacocinética preliminar de uma formulação farmacêutica de CBD purificado. As crianças tinham idades entre 4 e 10 anos e foram diagnosticadas com a síndrome de Dravet. Durante 3 semanas os participantes receberam uma dose oral de CBD nas doses de 5 mg/kg/dia ($n = 10$), 10 mg/kg/dia ($n = 8$) ou 20 mg/kg/dia ($n = 9$). Com isso, por meio de uma avaliação de segurança foi possível observar que a diminuição do apetite apresentava-se como um efeito adverso dependendo da dose. Assim, 13% e 44% das crianças que participaram dos grupos de 10 mg/kg/dia e 20 mg/kg /dia, respectivamente, apresentaram esse efeito adverso de diminuição de apetite. Um resultado parecido também foi evidenciado por Miller *et al.*, (2020) e Thiele *et al.*, (2018) que também identificaram que dependendo da dose o CBD apresentou como efeito adverso a diminuição do apetite.

No entanto, em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo realizado por Crippa *et al.*, (2021) onde teve o objetivo de investigar os efeitos do CBD na doença de coronavírus 2019, utilizaram 105 participantes: 49 participantes foram alocados aleatoriamente, para receber uma solução oral de CBD altamente purificado em 10 mg/kg/dia ou 20 mg/kg/dia por 2 semanas. Porém, não foram encontradas diferenças no apetite ou alterações de peso entre o grupo CBD e o grupo placebo. Os presentes resultados vão ao

encontro do nosso estudo, pois também não se observou diferenças estatisticamente significativas entre grupos com e sem CBD.

Em relação ao peso do tecido adiposo total, notou-se que os animais falsos operados apresentaram redução no tecido adiposo total quando comparados com todos os grupos de animais ovariectomizados. Devido a perda do papel protetor do estrogênio ocorre a alteração no processo de distribuição da gordura corporal (Stefanska *et al.*, 2015). Diversos estudos já relataram que devido a deficiência de estrogênio causada pela ovariectomia em modelos animais ocasionam uma alteração no processo de distribuição do tecido adiposo e um percentual aumentado de gordura corporal. Tais mudanças ocorrem devido a alterações nas concentrações plasmáticas de estrogênio, andrógenos e da globulina ligadora de hormônios sexuais (Davis *et al.*, 2012). A leptina inibe a ingestão de alimentos e aumenta o gasto energético, no entanto os obesos têm uma certa resistência a esse hormônio. Em um estudo realizado por Clegg DJ *et al.*, (2006) foi observado que ocorreu a redução da sensibilidade à leptina no sistema nervoso central de ratas ovariectomizadas.

No que diz respeito ao aumento significativo do tecido adiposo observado em nosso estudo no grupo tratado apenas com canabidiol em comparação ao outro grupo tratado com a associação do canabidiol e estrogênio que apresentaram uma diminuição significativa do tecido adiposo pesquisas sugerem que produtos que possuem perfis diversos de canabinoides e outros compostos podem produzir efeitos sinérgicos resultando em resposta terapêutica em doses mais baixas com risco reduzido de efeitos colaterais em relação a um único composto, produtos isolados (GALLILY *et al.*, 2015).

Paralelo a isso, em relação ao peso uterino, animais falso-operados apresentaram um aumento no peso uterino enquanto animais ovariectomizados apresentaram uma atrofia uterina caracterizando a eficácia da técnica realizada como também observada nos experimentos de Barthem *et al.*, (2019) ;Nigro *et al.*, (2014) e Xu *et al.*, (2018). Em um estudo desenvolvido por Carmo *et al.*, (2018) foi observado que o peso uterino dos animais submetidos à ovariectomia foi reduzido em comparação ao grupo falso operado.

O estrogênio é responsável por aumentar a síntese de proteínas, musculatura uterina, proliferação de células estromais e epiteliais, desenvolvimento de glândulas endometriais e novos vasos sanguíneos e a retenção de líquidos e eletrólitos promovendo, dessa forma, o aumento uterino (MUECK *et al.*, 2018).

Em outro estudo realizado por Sui e colaboradores (2022) onde investigaram os efeitos do CBD em vários sintomas relacionados à pós-menopausa concluíram que o CBD não afetou

a atrofia uterina desencadeada pela ovariectomia assim como no nosso estudo onde notou-se que o grupo tratado apenas com canabidiol apresentou atrofia uterina, no entanto, no grupo de animais que foram tratados com baixas doses de associação de canabidiol e estrogênio reverteram essa atrofia uterina quando comparado com o grupo tratado apenas com estrogênio.

Paralelo a isso, no que concerne ao acompanhamento do ciclo estral foi evidenciado que o tratamento com canabidiol e canabidiol com estrogênio apresentaram frequências de, respectivamente, 58,3% e 57,14% na fase estro. O que é um ponto positivo e sugestivo de que o tratamento está funcionando visto que nessa fase temos uma grande presença de células cornificadas. Esses dados estão de acordo com a literatura no que diz respeito a ovariectomia tanto em humanos como em ratos que deixam de apresentar ciclos estrais (FORTEPIANE *et al.*, 2002; FRISCH *et al.*, 1990).

Por meio do acompanhamento do ciclo estral é possível avaliar de forma mais precisa a função ovariana, pois como cada fase dura em média 24h a mudança ocorre rapidamente devido a variações nos níveis hormonais. O ciclo estral das ratas é dividido em 4 fases: proestro, metaestro, estro e diestro e estão diretamente relacionadas a flutuações de estradiol.

O proestro é a fase em que ocorre a ovulação e grandes picos de hormônios luteinizantes (LH), prolactina (PRL) e hormônio folículo estimulante (FSH). Já a fase estro é onde ocorre uma imensa queratinização e descamação vaginal sendo, dessa forma, a fase pós-ovulatória. As fases metaestro e diestro são as não férteis e tem uma grande predominância de leucócitos (MENDONÇA *et al.*, 2002). Dessa forma, no presente estudo quando comparamos os resultados dos grupos tratados com canabidiol e canabidiol com estrogênio é possível observar que houve uma melhora no epitélio vaginal em comparação ao grupo tratado apenas com estrogênio, pois houve a diminuição da atrofia genital, sintoma comum na menopausa, visto que a permanência da frequência na fase estro foi maior.

Como dito anteriormente, a fase estro é caracterizada pela presença de células cornificadas e altas concentrações de estrogênio. É nessa fase que ocorre a descamação do epitélio vaginal. Essa fase também apresenta níveis baixos de LH, estrogênio e progesterona, no entanto, apesar de baixo ainda se torna maior do que a encontrada na fase diestro no qual apresenta baixos níveis de estrogênio e menos células leucocitárias do que a fase metaestro (NG *et al.*, 2010).

Uma das principais consequências da menopausa é a deficiência dos hormônios ovarianos que tem por sua vez uma elevação nos níveis das gonadotrofinas, pois não existe

mais os mecanismos de retroalimentação negativa dos hormônios ovarianos (RANCE, 2009). Em relação aos níveis hormonais de estrogênio foi possível observar que o grupo OVX VEÍCULO apresentou níveis diminuídos de estrogênio o que é uma característica comum devido a ovariectomia (JELENIK *et al.*, 2013). No que diz respeito ao grupo OVX E2 foi possível observar um aumento nos níveis de estrogênio devido a reposição hormonal (NAMS, 2017) o tratamento com canabidiol e com a associação de baixas doses de estrogênio e canabidiol elevaram os níveis de estrogênio.

A elevação do FSH é a primeira alteração observada em mulheres que estão se aproximando da menopausa. Dessa forma, com relação a dosagem de FSH, o grupo OVX VEÍCULO apresentou-se elevado o que corrobora com o estudo de Gu *et al.*, (2018) onde também apresentou aumento do FSH após a ovariectomia. Os grupos OVX CBD e OVX CBD E2 não apresentaram diferença significativa nesse parâmetro.

O risco de desenvolver uma síndrome metabólica é mais elevado em mulheres pós-menopausa do que mulher pré-menopausa. A síndrome metabólica é caracterizada pela presença de características como: obesidade abdominal, glicemia de jejum elevada, pressão arterial elevada e dislipidemias que pode ser caracterizada por níveis elevados de triglicerídeos séricos ou níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) diminuídos (PARK YW *et al.*, 2003).

A diminuição dos níveis de estrogênios está diretamente relacionada a alterações no perfil lipídico, conseqüentemente, ao aumento do risco de aparecimento de doenças cardiovasculares (KAYA *et al.*, 2017). O estrogênio aumenta a síntese de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e diminui a de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Dessa forma em nosso estudo, ao observarmos os níveis de colesterol sérico, verificou-se um aumento em todos os grupos de animais ovariectomizados em relação ao falso operado o que se assemelha ao estudo realizado por Barthem CS e colaboradores (2019) que notou que o grupo OVX apresentou aumento estatisticamente significativo nos níveis séricos de colesterol. Ademais, notou-se também que no grupo de animais tratados com baixas doses de estrogênio e canabidiol tiveram uma leve diminuição dos níveis de colesterol em relação ao grupo OVX controle e OVX+CBD. Já no que diz respeito aos triglicerídeos o grupo ovariectomizado tratado com CBD, embora não tenha apresentado significância estatística, mostrou-se diminuído em comparação aos demais grupos. Em seu estudo Goettems Fiorin *et al.*, (2019) não observou alterações no perfil lipídico de animais OVX em relação ao grupo SHAM tratados com dieta normolipidêmica.

No que diz respeito aos níveis de magnésio (Mg) sérico dos animais submetidos aos tratamentos propostos no presente estudo, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais. Foi demonstrado que o Mg²⁺ sérico está diminuído em mulheres na pós-menopausa de acordo com o estudo realizado por Registre JY *et al.*, (1987) e Steidl L *et al.*, (1991) e em ratas ovariectomizadas como no estudo realizado por Turner RT *et al.*, (1987).

Porém, nos resultados encontrados no presente trabalho apesar de não haver diferenças significativas do ponto de vista estatístico nos níveis de magnésio o grupo OVX controle estava discretamente aumentado em comparação aos demais. Ademais, foi possível observar uma discreta diminuição nos níveis de magnésio nos grupos ovariectomizados tratados com estrogênio, canabidiol e associação de baixas doses de estrogênio e canabidiol, mas não tiveram significância estatística.

O magnésio caracteriza-se por ser o segundo cátion intracelular mais abundante depois do potássio. Estima-se que esteja presente em cerca de 60% nos ossos, 39% nos compartimentos intracelulares e 1% nos líquidos extracelulares. Por meio de vários mecanismos a deficiência de magnésio pode comprometer diretamente a saúde óssea alterando a estrutura dos cristais de apatita, reduzindo a rigidez óssea, aumentando os osteoclastos e diminuindo os osteoblastos. Ademais, o magnésio participa diretamente da síntese e ativação de vitamina D. Por isso, quando ocorre a deficiência de Magnésio também está associado a diminuição de níveis de PTH e, conseqüentemente, a diminuição de vitamina D (CASTIGLIONI *et al.*, 2013).

Em um trabalho realizado por Sonu *et al.*, (2016) foi relatado que os níveis séricos de magnésio na urina em mulheres na pós menopausa apresentaram uma significativa diminuição em detrimento das pré-menopausadas. Assim, ao considerarmos a diminuição dos níveis de magnésio presente na menopausa, os dados encontrados no presente estudo divergem de estudos anteriores, uma vez que não houve diferença estatística nos níveis de magnésio em relação aos grupos.

No que tange os níveis de albumina, proteína plasmática mais abundante e principal determinante da pressão coloidosmótica, não foi encontrada significância estatística entre os grupos. Nesse sentido, no que diz respeito aos níveis de albumina e magnésio uma das razões para não terem apresentado significância estatística pode se dar devido ao tempo de tratamento de 15 dias, pois o efeito metabólico demora a aparecer.

Paralelo a isso, no que concerne ao fogacho, outro sintoma muito presente na menopausa, verificou-se que os animais do grupo OVX veículo tiveram um aumento na

variação quando comparados aos grupos OVX tratado com estrogênio e o grupo OVX tratado com canabidiol. Ademais, o grupo OVX tratado apenas com canabidiol foi o que apresentou a menor variação de temperatura entre os grupos ovariectomizados.

Shuto e colaboradores (2005) em seu estudo concluíram que a rubor induzido por exercícios forçados da pele da cauda em camundongos ovariectomizados pode ser utilizado como modelo experimental de desregulação da temperatura em ondas de calor provenientes da menopausa. Ademais, Shuto e colaboradores (2005) verificaram que a temperatura da cauda de camundongos ovariectomizados que foram submetidos a exercício forçado mostrou um aumento rápido e acentuado em comparação aos camundongos falsos operados resultado esse que também foi evidenciado no nosso estudo. Ademais, também foi demonstrado em seu estudo que a administração de estrogênio teve um efeito protetor levando a melhora do tônus vascular local.

Em um trabalho desenvolvido por Ikeda (2008) onde foi utilizado o mesmo modelo de indução de fogacho desenvolvido por Shuto e colaboradores (2005) e que o objetivo foi testar se este modelo animal serviria como uma ferramenta de triagem para avaliar a efeitos de potenciais compostos terapêuticos em ondas de calor da menopausa e utilizaram inibidores seletivos da recaptção de serotonina fluvoxamina e paroxetina onde conseguiram concluir que esses inibidores restauram a desregulação da temperatura induzida por exercício forçado em camundongos ovariectomizados comprovando que esse modelo pode ser utilizado para simular ondas de calor em mulheres na menopausa, porque o aumento da condutância vascular periférica desencadeada pelo exercício forçado e pelo fato dos camundongos não se recuperarem prontamente devido a deficiência de estrogênio produzir o tônus vascular anormal e/ou autorregulação insuficiente da vasculatura local e esse efeito foi revertido devido a reposição de estrogênio.

Sabe-se que a temperatura central é modulada pelo estradiol e progesterona. Enquanto a progesterona aumenta de forma central a temperatura, o estrogênio, por outro lado, acaba diminuindo a temperatura corporal da mulher. Na fase lútea do ciclo menstrual ocorre um grande aumento de progesterona e isso faz com que a temperatura da mulher nesse período a temperatura central aumente cerca de 0,4°C acima da fase folicular (BAKER, 2007).

Apesar de ainda não haver uma precisão em relação aos mecanismos subjacentes do fogacho a instabilidade vasomotora está diretamente relacionada com a diminuição da secreção de esteroides ovarianos. Ademais, alguns estudos sugerem as regiões de

termorregulação apresenta alguns receptores estrogênicos e, por isso, podem influenciar sua estrutura devido aos níveis de estrogênio (DEECHER DC *et al.*, 2007).

Paralelo a isso, sabe-se que o receptor canabinoide CB1 é o mais abundante e está expresso em grande quantidade no sistema nervoso central. Dessa forma, esse receptor afeta diversas funções dentre elas a termorregulação (Fine PG *et al.*, 2013). Muito se conhece que roedores tratados com canabinoides apresentam hipotermia, porém esse sintoma só foi observado em baixas doses de THC, pois a partir do momento que a dose é aumentada esse efeito é contrário, ou seja, acaba aumentando (SOFIA, 1972; FENNESSY; TAYLOR, 1977).

No nosso estudo o tratamento apenas com canabidiol teve menor variação de temperatura do que o tratamento com estrogênio. Assim, novos estudos precisam ser realizados para esclarecer o mecanismo do canabidiol nesse modelo experimental de indução de fogacho e regulação de temperatura. .

Em relação ao estudo morfológico do tecido uterino observou-se que no grupo OVX CBD apesar das células estarem com um tamanho diminuído estavam preservadas em comparação ao grupo OVX VEÍCULO. O grupo OVX CBD E2 apresentou características positivas visto que teve uma alta celularidade e um endométrio muito ativo apresentando um resultado melhor do que o grupo OVX CBD e semelhante ao resultado do OVX E2. Além disso, apresentou um epitélio pseudoestratificado em comparação com o OVX VEÍCULO que apresentou um epitélio colunar simples. O canabidiol apresentar baixa afinidade pelos receptores CB1 e CB2 e estudos indicam que o útero tem alta expressão de receptores CB1 e CB2 (Resuehr *et al.*, 2012) (Sanchez *ET AL.*, 2012). Segundo Peralta e colaboradores (2009) os oócitos humanos expressam tanto CB1 como CB2 no útero dependendo da fase do ciclo. O CBD tem como uma das suas funções inibir a formação da FAAH o que, conseqüentemente, inibe a formação da degradação da anandamida em NAGly (N-araquidonilglicina) (estimulante de GPR18) e de outros metabolitos. Ademais, o CBD mostra-se ser um antagonista de GPR18 demonstrando sua importância para a prevenção da disseminação anormal do tecido endometrial.

No seu conjunto, estes achados corroboram as observações histológicas, indicando que o CBD contribuiu para preservar a morfologia do sistema reprodutor, incluindo alterações fisiológicas relacionadas com o ciclo estral. Os resultados da análise histológica apoiam a hipótese de que o CBD contribuiu para preservar a histologia uterina, nomeadamente prevenindo a fibrose e mantendo estruturas epiteliais mais preservadas, ainda que com dimensão diminuída em relação ao grupo Sham.

8 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados permitem sugerir que o canabidiol é relevante no que diz respeito a alguns sintomas da menopausa principalmente quando ocorre a sua associação com baixas doses de estrogênio.

- I. O tratamento com a associação de baixas doses de canabidiol e estrogênio em ratas ovariectomizadas apresentaram resultados favoráveis em relação ao peso corporal, consumo de ração, peso do tecido adiposo e peso uterino. Apresentou uma maior maturação vaginal com melhora na sua atrofia, diminuição no consumo de ração, tecido adiposo e peso corporal em comparação ao tratamento apenas com canabidiol.
- II. Os níveis hormonais de Estradiol no sangue de ratas menopausadas tratadas com a associação de canabidiol e estrogênio aumentaram em comparação aos demais grupos já os níveis de FSH foram maiores no grupo Sham do que os demais grupos.
- III. O tratamento apenas com canabidiol e da associação de canabidiol e estrogênio apresentaram resultados significativos, pois ambos tiveram frequência maior que 50% na fase estro do ciclo estral.
- IV. O tratamento apenas com canabidiol ajudou na preservação da histologia uterina onde preveniu a fibrose e manteve as estruturas epiteliais preservadas.
- V. Os níveis bioquímicos de albumina, magnésio e triglicerídeos não apresentaram alterações. Porém, os níveis de colesterol total no grupo tratado com associação de canabidiol e estrogênio apresentou uma diminuição em comparação ao grupo tratado apenas com canabidiol.
- VI. O tratamento apenas com canabidiol contribuiu para mitigar os fogachos neste modelo animal.

Além disso, são necessárias pesquisas adicionais para explorar os mecanismos relacionados a esses dados encontrados no presente estudo para que, dessa forma, possa investigar a possibilidade da utilização do canabidiol para o tratamento de sintomas da menopausa.

REFERÊNCIAS

ADAMS RHM, Clark JH. Estrutura do canabidiol, um produto isolado do extrato de maconha do cânhamo selvagem de Minnesota. **J Am Chem Soc.** 1940; 62:196.

AIZPURUA-OLAIZOLA, O. *et al.*, Targeting the endocannabinoid system: future therapeutic strategies. **Drug Discov Today**, v. 22, n. 1, p. 105-110, Jan 2017. ISSN 1878-5832.

ALEXANDER, C., Cochran, C.J., Gallicchio, L., Miller, S.R., Flaws, J.A., & Zacur, H. H. (2010). **Serum leptin levels, hormone levels, and hot flashes in midlife women.** Fertility and Sterility American Society for Reproductive Medicine, Published by Elsevier Inc. 94(3),1037-1043.

ALMEIDA M., Laurent MR, Dubois V., Claessens F., O'Brien CA, Bouillon R., Vanderschueren D., Manolagas SC Estrogênios e androgênios na fisiologia e fisiopatologia do esqueleto. **Physiol. Rev.** 2017; 97 :135–187. doi: 10.1152/physrev.00033.2015.

ASARIAN L, Geary N. Diferenças sexuais na fisiologia da alimentação. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 2013; 305 :R1215–R1267.

BAKER, F. *et al.*, Sleep and Sleep Disorders in the Menopausal Transition. **Sleep Med Clin.**, v.13, n.3, p. 443-456, 2018.

BARTHEM CS, Rossetti CL, Carvalho DP, da-Silva WS, (2019) Metformina melhora o ganho de massa corporal e alterações metabólicas precoces em ratas ovariectomizadas. **Endocr Connect** 8(12):1568–1578.

BEAL JE, Olson R, Laubenstein L, *et al.*, Dronabinol como tratamento para anorexia associada à perda de peso em pacientes com AIDS. **J Pain Symptom Manag.** 1995; 10 (2):89–97. doi: 10.1016/0885-3924(94)00117-4.

BOUCINHA, M.S.T. (2012). Associações entre níveis séricos de fatores de crescimento, insulina e leptina com fatores prognósticos do câncer de mama. Tese de mestrado do programa de pós-graduação em Medicina – Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS.

BRASIL MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS ESTRATÉGICAS. Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa. 2008.

BURSTEIN S. Canabidiol (CBD) e seus análogos: uma revisão de seus efeitos na inflamação. **Bioorg. Med. Chem.** 2015; 23 :1377–1385. doi: 10.1016/j.bmc.2015.01.059.

CAROSIO S., Berardinelli MG, Aucello M., Musarò A. Impacto do envelhecimento na regeneração das células musculares. **Revisões de Pesquisa sobre Envelhecimento.** 2011; 10 (1):35–42. doi: 10.1016/j.arr.2009.08.001.

CASTIGLIONI S, Cazzaniga A, Albisetti W, Maier M. Magnésio e Osteoporose: Estado Atual do Conhecimento e Direções de Pesquisa Futura. **Nutrientes.** 2013; 5 :3022–3033.

CLEGG DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. **Diabetes**. 2006 Apr;55(4):978-87. <http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1339>

CRIPPA JA, Guimarães FS, Campos AC, Zuardi AW. Investigação translacional do potencial terapêutico do canabidiol (CBD): Rumo a uma Nova Era. **Frente Immunol**. 2018; 9:2009.

CRIPPA JAS, Pacheco JC, Zuardi AW, *et al.*,. Canabidiol para pacientes com COVID-19 com sintomas leves a moderados (Estudo CANDIDATO): um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. **Cannabis Cannabinoid Res**. 2021 doi: 10.1089/can.2021.0093.

CURIONI C, André C. Rimonabant para sobrepeso ou obesidade. **Cochrane Database Syst Rev**. 2006; 4 :6162. doi: 10.1002/14651858.CD006162.pub2.

DAAN, Nadine M. P.; MUKA, Taulant; KOSTER, Maria P. H.; VAN LENNEP, Jaenine E. Roeters; LAMBALK, Cornelis B.; LAVEN, Joop S. E.; FAUSER, Clemens G. K. M.; MEUN, Cindy; DE RIJKE, Yolanda B.; BOERSMA, Eric; FRANCO, Oscar H.; KAVOUSI, Maryam; FAUSER, Bart C. J. M. Cardiovascular Risk in Women With Premature Ovarian Insufficiency Compared to Premenopausal Women at Middle Age. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 9, p.

DAVIS SR, Castelo-Branco C, Chedraui P, Lumsdem MA, Nappi RE, Shah D, *et al.*,. Understanding weight gain at menopause. **Climacteric**. 2012 Oct;15(5):419- 29.

DAVIS, S., Lambrinoudaki, I., Lumsden, M. *et al.*,. Menopause. **Nat Rev Dis Primers** 1, 15004 (2015). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.4>

DAVIS, S.R., Baber, R.J. Treating menopause — MHT and beyond. **Nat Rev Endocrinol** 18, 490–502 (2022).

DEECHER DC, Dorries K. Understanding the pathophysiology of vasomotor symptoms (hot flushes and night sweats) that occur in perimenopause, menopause, and postmenopause life stages. **Arch Womens Ment Health**. 2007 Jan;10(6):247–57.

DEVINSKY O, Patel AD, Thiele EA, *et al.*,. Ensaio de segurança randomizado, variando a dose de canabidiol na síndrome de Dravet. **Neurologia**. 2018; 90 (14):e1204–e1211. doi: 10.1212/WNL.0000000000000525.

DI MARZO, V. *et al.*,. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. **Nature**, v. 372, n. 6507, p. 686-91, Dec 1994. ISSN 0028-0836.

DIAS, D.S., Bernardes, N., Brito, J.O., Conti, F.F., Irigoyen, M.C., Rodrigues, B., & Angelis, K.(2011). Impacto do Envelhecimento nas Disfunções Metabólicas e Cardiovasculares em Modelo Experimental de Menopausa. **Rev Bras Cardiol**. 24(5), 392-399.

DUNNERAM, Y., Greenwood, D. C., & Cade, J. E. Diet, menopause and the risk of ovarian, endometrial and breast cancer. **Proceedings of the Nutrition Society**, 2019;78(3), 438- 448.

GROTENHERMEN, Canabinóides e o sistema endocanabinóide, canabinóides, 1(1), 10-14

(2006).

FERNANDEZ, Ruiz J, Sagredo O, Pazos MR, Garcia C, Pertwee R, Mechoulam R, *et al.*,. Cannabidiol for neurodegenerative disorders: important new clinical applications for this phytocannabinoid? **Br J Clin Pharmacol**. fevereiro de 2013;75(2):323–33.

FINE PG, Rosenfeld MJ. The endocannabinoid system, cannabinoids, and pain. **Rambam Maimonides Med J**. 2013;4(4):e0022.

GARTOULLA P, Bell RJ, Worsley R, Davis SR. Sintomas vasomotores incômodos moderados a graves estão associados a um bem-estar psicológico geral reduzido em mulheres na meia-idade. **Maturitas** 2015;81:487-492. doi: 10.1016/j.maturitas.2015.06.004.

GIBSON C, Huang A, Maguen S, e outros. **Uso de cannabis para o controle dos sintomas da menopausa entre mulheres de meia-idade Veteranas**. Anais da Reunião Anual Virtual de 2020 da North American Menopause Society (NAMS); San Francisco VA Health Sistema de Cuidados; Universidade da Califórnia; 2020.

GRAVENA AAF, Rocha SC, Romeiro TC, *et al.*,. Sintomas climatéricos e estado nutricional de mulheres na pós-menopausa usuárias e não usuárias de terapia hormonal. **Rev. bras. ginecol. obstet**. 2013;35(4):178-184

HARLOW, S. D.; GASS M.; HALL J.E.; *et al.*,. Executive summary of the stages of JIA M.; DAHLMAN-WRIGHT K.; GUSTAFSSON JÅ. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v.29, n.4, p.557-568, 2015

HILL DA, Crider M, Hill SR. Terapia hormonal e outros tratamentos para os sintomas da menopausa. **Am Fam Physician** 2016;94:884-889

HOLT-WALDO NY, Stephenson K. The lived experience of perimenopausal and menopausal women undergoing treatment with bioidentical human hormones. **Int. J Pharm Compound**. 2007; 11(4): 292-8

HONÓRIO KM, Arroio A, Silva ABF da. Aspectos terapêuticos de compostos da planta Cannabis sativa. **Química Nova**. abril de 2006;29(2):318–25.

HOWLETT, A. C. The CB1 cannabinoid receptor in the brain. **Neurobiol Dis**, v. 5, n. 6 Pt B, p. 405-16, Dec 1998. ISSN 0969-9961.

HUESTIS MA Farmacocinética e metabolismo dos canabinóides vegetais, delta9-tetrahydrocannabinol, canabidiol e canabinol. **Handb. Exp. farm**. 2005 doi: 10.1007/3-540-26573-2_23

HULLEY S, Grady D, Bush T, *et al.*,. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and estrogen / progestin replacement study (HERS) research group. **JAMA**. 1998 ago; 280(7):605-13.15.

IA. Moiron, sistema endocanabinóide: virtudes de uma função pouco conhecida no organismo animal, **Seleções Veterinárias**, 28(26), 1-8 (2020).

IANNOTTI, F. A.; DI MARZO, V.; PETROSINO, S. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. **Prog Lipid Res**, v. 62, p. 107-28, 04 2016. ISSN 1873-2194.

IBEAS Bih C., Chen T., Nunn AV, Bazelot M., Dallas M., Whalley BJ Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders. **Neuroter. Geléia. Sociedade Exp. Neuroter.** 2015; 12 :699–730. doi: 10.1007/s13311-015-0377-3.

IGNATOWSKA, Jankowska B, Jankowski MM, Swiergiel AH. O canabidiol diminui o ganho de peso corporal em ratos: envolvimento dos receptores CB2. **Neurosci Lett.** (2011) 490:82–4. doi: 10.1016/j.neulet.2010.12.031

J M.Carmo, A.A.Silva, S.P. Moak, R. J. Browning, X. Dai, J. E. Hall. Increased sleep time and reduced energy expenditure contributeto obesity after ovariectomy and a high fat diet **Life Sciences** 212 (2018) 119-128.

JR Albaine-Pons, *Biologia dacannabis sativa*(Maconha): efeitos em animais de laboratório, **Ciência e Sociedade**,10, 399-411 (1985).

KAYA, C.; CENGIZ, H.; YEŞIL, A.; EKIN, M.; YAŞAR, L. The relation among steroid hormone levels, lipid profile and menopausal symptom severity. **Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology**, v. 38, n. 4, p. 284-291, 2017.KOURIEFS C, Georgiou M, Ravi R. **Hot flushes and prostate cancer: pathogenesis and treatment.** *BJU Int.* 2002 Mar;89(4):379–83.

KOZAKOWSKI J, Zgliczyński W. Rola układu endokannabinoidowego w patogenezie otyyości. **Post Nauk Med.** 2008; 3: 198–202.

LE, Marchand-Brustel, P. Gual, A. Mallat, S. Lotersztajn, Cannabinoid CB2 receptor potencializa a inflamação associada à obesidade, resistência à insulina e esteatose hepática, **PLoS One** 4 (2009) e5844.

LOBO RA. Where are we 10 years after the Women’s Health Initiative? **J Clin Endocrinol Metab.** 2013;98:1771-80

LORAND T., Vigh E., Garai J. Ação hormonal de derivados de plantas e compostos estrogênicos não esteróides antropogênicos: fitoestrogênios e xenoestrogênios. **atual Med. Chem.** 2010; 17 :3542–3574. doi: 10.2174/092986710792927813.

M. KATHRYN Dahlgren, PhD,1,2,3Celine El-Abboud, BA,1,2Ashley M. Lambros, BS,1,2Kelly A. SAGAR, PhD,1,2,3 Rosemary T. Smith, BS,1,2e Staci A. Gruber, PhD1,2,3 Uma pesquisa sobre o uso de cannabis medicinal durante a perimenopausa e a pós-menopausa. **Menopausa: The Journal of The North American Menopause Society** Vol. 29, nº 9, pp. 1028-1036 DOI: 10.1097/GME.0000000000002018

M. NIGRO, A.T. Santos, C.S. Barthem, R.A.N. Louzada, R.S. Fortunato, L.A. Ketzer, D.P. Carvalho, L. de Meis **Uma alteração no metabolismo hepático, mas não na termogênese do tecido adiposo marrom, é um evento precoce na obesidade induzida por ovariectomia em ratos** *Endocrinology* , 155 (2014) , pp. 101-116. Rev. 2881–2891 , 10.1210

MALTAIS ML, Desroches J., Dionne IJ Mudanças na massa e força muscular após a menopausa. *Jornal de Interações Neurais Musculoesqueléticas* . 2009; 9 (4):186–197

MARCO EM, Laviola G. The endocannabinoid system in the regulation of emotions throughout lifespan: a discussion on therapeutic perspectives. *J Psychopharmacol* (Oxford). janeiro de 2012;26(1):150–63.

MATSUDA, L. A. *et al.*. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, v. 346, n. 6284, p. 561-4, Aug 1990. ISSN 0028-0836. 2.

MENDONÇA F.S., EVÊNCIO-NETO J., BARATELLA-EVÊNCIO L., TEIXEIRA A.A.C., WANDERLEY- TEIXEIRA V., MENDONÇA J.S., MEDEIROS J.P., MELO A.H., SOARES A.P. Avaliação do ciclo estral de ratas (*rattus norvegicus albinus*) pinealectomizadas e submetidas à ausência de luz. *Arq.Inst.Biol.*, São Paulo, v.69 (supl.), p.1-306, 2002.

MILLAR SA, Stone NL, Yates AS, O'Sullivan SE Uma revisão sistemática sobre a farmacocinética do canabidiol em humanos. *Frente. farm.* 2018; 9 :1365. doi: 10.3389/fphar.2018.01365.

MILLER I, Scheffer IE, Gunning B, *et al.*. Efeito de variação da dose de canabidiol oral adjuvante versus placebo na frequência de crises convulsivas na síndrome de Dravet: um ensaio clínico randomizado. *JAMA Neurol.* 2020; 77 (5):613–621. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.0073.

MISSO ML, Jang C, Adams J, e outros. Expressão diferencial de fatores envolvidos no metabolismo da gordura com a idade e a transição da menopausa. *Maturitas* 2005;51:299–306

MORGAN, Martins, M.I., Jacques, S.I., Hartman, R.M., Marques, C., Marroni, C.A., & Marroni, N.P. (2011). Protection of estrogen in portal hypertension gastropaty: an experimental model. *Arq Gastroenterol.* 48, 211-216.

NEVES e Castro, M. Climatério e Menopausa. *Endocrinologia, Diabetes & Obesidade.* 2009 mar; 3(2):68-83

NG, K.Y., Yong, J., & Chakraborty, T.R. (2010). Estrous cycle in ob/ob and ovariectomized female mice and its relation with estrogen and leptin. *Physiology & Behavior Elsevier Inc.* All rights reserved. 99(1), 125–130.

NIESINK RJM, Van Laar MW. Does Cannabidiol Protect Against Adverse Psychological Effects of THC? *Front Psychiatry.* 2013;4:130.

NIESINK RJM, Van Laar MW. Does Cannabidiol Protect Against Adverse Psychological Effects of THC? *Front Psychiatry.* 2013;4:130.

OLIVEIRA J, Peruch MH, Gonçalves S, Haas P. Padrão hormonal feminino: menopausa e terapia de reposição. *RBAC.* 2016; 48(3):198-210. PAGOTTO U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R: O papel emergente do sistema endocanabinóide na regulação endócrina e balanço energético. *Endocr Rev* 27:73–100, 2006

PARDINI, Dolores. Terapia de reposição hormonal na menopausa. *Arq Bras Endocrinol*

Metab [Internet]. 2014 Mar [citado 2018 Jun 08] ; 58(2): 172-181.

PARK YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. A síndrome metabólica: prevalência e achados de fatores de risco associados na população dos EUA da terceira Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição, 1988–1994. *Archives of Internal Medicine* 2003. 427–436. (10.1001/archinte.163.4.427)

PERTWEE RG. A farmacologia diversa dos receptores CB1 e CB2 de três canabinóides vegetais: delta9-tetrahydrocannabinol, canabidiol e delta9-tetrahydrocannabivarina. *Br J Pharmacol*. 2008; 153 (2):199–215. doi: 10.1038/sj.bjp.0707442.

PIECHA, VH. *et al.*,. Percepções de mulheres acerca do climatério. **Rev. pesqui. cuid. fundam.** (Online), v.10, n.4, p.906-912, 2018.

PLASSE TF, Gorter RW, Krasnow SH, *et al.*,. Experiência clínica recente com dronabinol. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991; 40 (3):695–700. doi: 10.1016/0091-3057(91)90385-f.

PRAKAPENKA, A.; BIMONTE-NELSON, H. **Memory and menopause: an unsolved puzzle.** *Aging* (Albany NY), v.10, n.10, p. 2541-2543, 2018

REDDY DS A utilidade do canabidiol no tratamento da epilepsia refratária. *Clin. farm.* 2017; 101 :182–184. doi: 10.1002/cpt.441.

ROZENBERG S, Vandromme J, Antoine C. Postmenopausal hormone therapy: risks and benefits. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9,216-27

SABERIVAND A, Karimi I, Becker LA, *et al.*,. Os efeitos da semente de Cannabis sativa L. (semente de cânhamo) no modelo de menopausa de ratos ovariectomizados. **Métodos Find Exp Clin Pharmacol**2010;32:467-473. doi: 10.1358/mf.2010.32.7.1487085

SAM AH, Salem V. Ghatei MA Rimonabant: do RIO ao Ban. *J Obes*. 2011; 2011 :432607. doi: 10.1155/2011/432607.

SCHREURS, M. PH *et al.*,. How the Gut Microbiome Links to Menopause and Obesity, with Possible Implications for Endometrial Cancer Development. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 13, p. 2916, 2021.

SILVA AS, Deus AA. Comportamentos de consumo de haxixe e saúde mental em adolescentes: Estudo comparativo. **Análise Psicológica**. abril de 2005;23(2):151–72.

SILVA, A. C. J. S. R. e; SÁ, M. F. S. de. Efeitos dos esteróides sexuais sobre o humor e a cognição. **Archives Of Clinical Psychiatry** (São Paulo), [S.L.], v. 33, n. 2, p. 60-67, 2006. FapUNIFESP (SciELO).

SILVA, M. B. A., & de Oliveira, D. C. Menopausa E Alimentação: Práticas Nutricionais Para Uma Sintomatologia Satisfatória. **Revista Acadêmica Facottur**, [s. l], v. 2, n. 1, p. 26-37, fev. 2021.

SILVESTRI C, Paris D, Martella A, Melck D, Guadagnino I, Cawthorne M, *et al.*,. Dois canabinóides não psicoativos reduzem os níveis de lipídios intracelulares e inibem a

hepatoesteatose. **J Hepatol.** (2015) 62:1382-90. doi: 10.1016/j.jhep.2015.01.001

SUI, K.; Tveter, KM; Bawagan, FG; Buckendahl, P.; Martínez, SA; Jaffri, ZH; MacDonell, AT; Wu, Y.; Duran, RM; Shapses, SA Camundongos ovariectomizados tratados com canabidiol mostram aumento da glicose, energia e metabolismo ósseo com uma proliferação em *Lactobacillus*. **Frente. Pharmacol.** 2022, 2282

THIELE EA, Marsh ED, French JA, *et al.*,. Canabidiol em pacientes com convulsões associadas à síndrome de Lennox-Gastaut (GWPCARE4): um estudo de fase 3 randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. **Lanceta.** 2018; 391 (10125):1085–1096. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30136-3.

UJVARY I., Hanus L. Metabólitos humanos de canabidiol: uma revisão sobre sua formação, atividade biológica e relevância na terapia. **Cannabis Cannabinoid Res.** 2016; 1 :90–101. doi: 10.1089/can.2015.0012.

V. DEVEAUX, T. Cadoudal, Y. Ichigotani, F. Teixeira-Clerc, A. Louvet, S. Manin, JT Nhieu, MP Belot, A. Zimmer, P. Even, PD Cani, C. Knauf, R. Burcelin, A. Bertola, Y.

VIEIRA, Carolina Sales, Oliveira Luciana Correa Oliveira de, Sá Marcos Felipe Silva de. Hormônios femininos e hemostasia. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** [Internet]. 2007

Y. SONU, S.S. Avinash, Sreekantha, K.A Kumar, M. Malathi, A.R. Shivashankara. Effect of Oestrogen on Altering the Serum and Urinary Levels of Calcium, Phosphate and Magnesium in Hysterectomised Women Compared to Natural Menopausal South Indian Women: A Case Control Study. **Ind J Clin Biochem** 31 (2016) 326–331.

YAMASAKI H, Douchi T, Yamamoto S, Oki T, Kuwahata R, Nagata Y. Distribuição de gordura corporal e composição corporal durante terapia com agonista de GnRH. **Obstet Gynecol.** 2001; 97 :338–342.

YXZ Xu , Andrew SR , Mishra S **A gonadectomia em camundongos Mito-Ob revelou uma relação sexual dimórfica entre proibitina e esteróides sexuais na biologia do tecido adiposo e na homeostase da glicose** *Biol. Sexo Difere.* , 9 (2018) , pp. 1-15 , [10.1186/s13293-018-0196-4](#)

ZUARDI AW. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Revista Brasileira de Psiquiatria.** setembro de 2008;30(3):271–80.

Gallily R, Yekhtin Z, HanušLO. Superando a dose-resposta em forma de sino de canabidiol usando extrato de cannabis enriquecido em canabidiol. **Farmacol Farma** 2015;06:75-85. doi: 10.4236/pp.2015.62010

Resuehr D, Glore DR, Taylor HS, *et al.*, . Progesterone-dependent regulation of endometrial cannabinoid receptor type 1 (CB1-R) expression is disrupted in women with endometriosis and in isolated stromal cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). **Fertil Steril.** 2012;98:948–956.e1

Sanchez AM, Vigano P, Mugione A, *et al.*, . The molecular connections between the cannabinoid system and endometriosis. **Mol Hum Reprod.** 2012;18:563–57

Peralta L, Agirregoitia E, Mendoza R, *et al.*. . Human oocytes express CB1 and CB2 cannabinoid receptors and their localization changes in the different oocyte maturation stages. In: **IV European Workshop on Cannabinoid Research**, May7–10, 2009 S. Lorenzo de El Escorial: Madrid, Spain, 14.

Wierucka-Rybak M, Wolak M, Bojanowska E. The effects of leptin in combination with a cannabinoid receptor 1 antagonist, AM 251, or cannabidiol on food intake and body weight in rats fed a high-fat or a free-choice high sugar diet. *J Physiol Pharmacol.* 2014 Aug;65(4):487-96. PMID: 25179081.

ANEXO

Anexo A – Aprovação da comissão de ética no uso de animais



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CIAEP: 02.0341.2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO



CERTIFICADO

(01/2022)

Certificamos que a proposta intitulada: "Efeito do tratamento crônico com derivado da Cannabis sativa (5-9-tetrahydrocannabinol) nos sintomas da menopausa" Processo 23115.025744/2021-88, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Haissa Oliveira Brito, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 19 de agosto de 2021.

We certify that the proposal: "Chronic treatment effects of Cannabis sativa derivative (5-9-tetrahydrocannabinol) on menopausal symptoms", Process 23115.025744/2021-88, under the responsibility of Prof. Dr. Haissa Oliveira Brito, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11.794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of August 19, 2021.

PROPOSTA

Finalidade: Pesquisa Área: Ciências da Saúde
Vigência: 01/02/2022 a 31/10/2023

ANIMAIS

Origem: Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão

Espécie: *Rattus norvegicus* var. Wistar Sexo: Fêmeas Idade: 60 dias
Peso: 250g

AMOSTRA
55

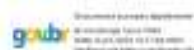
Espécie: *Mus musculus* var. Swiss Sexo: Fêmeas Idade: 60 dias
Peso: 25g

AMOSTRA
55

Local do experimento: Biotério Setorial de Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão – CCBS/UFMA.

São Luís, 25 de janeiro de 2022

Aracelis Araújo Santana Pereira



Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFMA